

SÉRIE A,
N° D'ORDRE : 478.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE D'INGÉNIEUR-DOCTEUR

PAR

PIERRE BRETTON

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES COMPLEXES CUIVRIQUES
DES AMINO-ACIDES DE LA FAMILLE DES LEUCINES PAR
DIFFÉRENTES MÉTHODES PHYSICO-CHIMIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 2 mai 1955 devant la Commission d'Examen :

MM. JOB,	<i>Président.</i>
CHAUDRON,	} <i>Examineurs.</i>
BENARD,	

CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND
9, RUE FULBERT, 9

1958

SÉRIE A,
N° D'ORDRE : 478.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE D'INGÉNIEUR-DOCTEUR

PAR

PIERRE BRETTON

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES COMPLEXES CUIVRIQUES
DES AMINO-ACIDES DE LA FAMILLE DES LEUCINES PAR
DIFFÉRENTES MÉTHODES PHYSICO-CHIMIQUES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 2 mai 1955 devant la Commission d'Examen :

MM. JOB,

Président.

CHAUDRON, }
BENARD, }

Examineurs.



CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND

9, RUE FULBERT, 9

—
1958

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... J. PÉRÈS.

PROFESSEURS

G. JULIA.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	JANET.....	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.
E. DARMOIS.....	T	Enseignement de Physique.	PETIT.....	T	Biologie maritime.
R. LÉVY.....	T	Physiologie comparée.	QUENEY.....	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
FOCH.....	T	Mécanique physique et Exper.	GALLIEN.....	T	Embryologie.
PAUTHENIER.....	T	Électrotechnique générale.	EICHHORN.....	T	Biologie Végétale (P.C.B.).
DE BROGLIE.....	T	Théories physiques.	DE CUGNAC.....		Biologie Végétale (P.C.B.).
JOB.....	T	Chimie générale.	M ^{lle} CAUCHOIS....	T	Chimie-Physique.
PRENANT.....	T	Anatomie et Histologie comparées.	THELLIER.....	T	Physique du globe.
GARNIER.....	T	Géométrie supérieure.	AUDUBERT.....	T	Électrochimie.
PERES.....	T	Mécanique des fluides et applications.	L'HÉRITIER.....	T	Génétique.
LAUGIER.....	T	Physiologie générale.	GRIVET.....	T	Radioélectricité.
M. CURIE.....	T	Physique (P.C.B.).	PONCIN.....	T	Mécanique des fluides.
BARRABE.....	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	THIRY.....	T	Mécanique appliquée.
G. DARMOIS.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	DUBREIL.....	T	Arithmétique et théorie des nombres.
J. BOURCART.....	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	QUELET.....	T	Chimie organique.
M ^{me} JOLIO-CURIE.	T	Physique nucléaire et Radioactivité.	CAGNIARD.....	T	Géophysique appliquée.
PLANTEFOL.....	T	Botanique.	CHAMPETIER.....	T	Chimie macromoléculaire.
CABANNES.....	T	Recherches physiques.	CUVILLIER.....	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.
GRASSÉ.....	T	Évolution des êtres organisés.	JUNG.....	T	Pétrographie.
PRÉVOST.....	T	Chimie organique.	TRILLAT.....	T	Microscopie et diffraction électronique.
BOULIGAND.....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	WIEMANN.....	T	Chimie organique structurale.
CHAUDRON.....	T	Chimie appliquée.	JACQUINOT.....	T	Spectroscopie et Physique céleste.
WYART.....	T	Minéralogie.	VASSY.....		Physique de l'atmosphère.
TEISSIER.....	T	Zoologie.	DESTOUCHES.....		Théories physiques.
MANGENOT.....	T	Biologie végétale.	M. PRUVOST.....	T	Géologie.
P. AUGER.....	T	Physique quantique et Relativité.	AMIEL.....	T	Chimie (P.C.B.).
MONNIER.....	T	Physiologie des fonctions.	HOCART.....	T	Minéralogie.
PIVETEAU.....	T	Géologie.	J.-P. MATHIEU....	T	Physique (P.C.B.).
ROCARD.....	T	Physique (E.N.S.).	COUTEAUX.....	T	Biologie animale (P.C.B.).
H. CARTAN.....	T	Mathématiques (E.N.S.)	MAY.....		Biologie animale (P.C.B.).
LAFFITTE.....	T	Chimie générale.	CHOQUET.....	T	Calcul différentiel et intégral.
FAVARD.....	T	Mécanique générale.	FELDMANN.....		Biologie (P.C.B.).
COULOMB.....	T	Physique du globe.	GUINIER.....	T	Physique (P.C.B.).
M ^{lle} COUSIN.....	T	Biologie animale (P.C.B.).	JOST.....	T	Biologie (P.C.B.).
CHRÉTIEN.....	T	Chimie minérale.	FORTET.....	T	Calcul des probabilités.
P. DRACH.....	T	Zoologie.	SCHWARTZ.....	T	Méth. Mathématique de la physique.
KASTLER.....	T	Physique.	CHOUARD.....	T	Physiologie végétale.
EPHRUSSI.....	T	Génétique.	MALAVARD.....	T	Aviation.
WURMSER.....	T	Biologie physico-chimique.	BRELOT.....	T	Calcul différentiel.
RIVIÈRE.....	T	Géologie (S.P.C.N.).	NORMANT.....	T	Chimie (P.C.B.).
GAUTHERET.....	T	Biologie Végétale (P.C.B.).	BÉNARD.....	T	Chimie (P.C.B.).
LUCAS.....	T	Recherches physiques.	BUVAT.....	T	Botanique (E.N.S.).
A. THOMAS.....	T	Biologie cellulaire.	DUGUÉ.....	T	Statistiques mathématiques.
ARNULF.....	T	Optique appliquée.	GELOSO.....		Chimie (S.P.C.N.).
M. MORAND.....	T	Physique.	SOULAIRAC.....	T	Psychophysiologie.
SOLEILLET.....	T	Physique.	ULRICH.....	T	Physiologie végétale.
FORTIER.....	T	Mécanique expérimentale des fluides.	MARÉCHAL.....	T	Optique théorique et appliquée.
DANJON.....	T	Astronomie.	KIRRMANN.....	T	Théories chimiques.
FROMAGEOT.....	T	Chimie Biologique.	CHADEFAUD.....		Botanique.
LAPORTE.....	T	Physique générale et Radioactivité.	DESTRIAU.....		Physique (M.P.C.).
			M ^{lle} Le BRETON....		Physiologie générale.
			SALEM.....		Mathématiques générales.

Secrétaire général..... Ch. MONIER.

Ce travail a été effectué au laboratoire de Chimie Physique de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris, sous la direction de M^{lle} M. Quintin, maître de conférences adjoint et maître de recherches.

Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude, tant pour les conseils qu'elle n'a cessé de me prodiguer, que pour l'exemple de probité intellectuelle et de désintéressement qu'elle donne à ses élèves.

Je remercie M. le Professeur G. Chaudron, directeur de l'École; M. le Professeur P. Job et M. le Professeur J. Benard de l'intérêt qu'ils m'ont si souvent témoigné.

CHAPITRE PREMIER

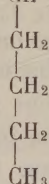
Méthode des mesures combinées, application à la L. Leucine,

INTRODUCTION

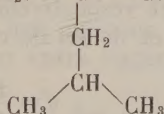
Parmi tous les complexes métalliques des amino-acides, les composés de la série des leucines avec le cuivre bivalent ont été relativement peu étudiés. Il nous a paru intéressant de reprendre complètement cette question et de mettre au point une méthode de recherche qui s'adapte aussi bien que possible à ce genre de problème.

La famille de la leucine comprend 3 acides mono-amino-mono-carboxyliques isomères.

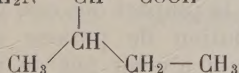
la *norleucine* $\text{H}_2\text{N} - \text{CH} - \text{COOH}$



la *leucine* $\text{H}_2\text{N} - \text{CH} - \text{COOH}$



et l'*isoleucine* $\text{H}_2\text{N} - \text{CH} - \text{COOH}$



Comme tous les amino-acides, ils peuvent prendre, en solution aqueuse, 3 formes ioniques :

Soit un ion positif que nous représenterons par R^+ dans la zone acide,

soit un ion négatif que nous représenterons par R^- dans la zone alcaline,

soit un ion bipolaire que nous représenterons par $\text{R}^\pm$ dans la zone intermédiaire.

La forme non chargée est négligeable en solution.

Les activités respectives de ces trois formes, représentées par les quantités entre crochets, sont reliées deux à deux par les équations résultant de la loi d'action des masses appliquée aux équilibres, et dont les constantes sont K_1 et K_2 .

$$\frac{[\text{+NH}_3 - \text{R} - \text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{+NH}_3 - \text{R} - \text{COOH}]} = K_1$$

$$\frac{[\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{+NH}_3 - \text{R} - \text{COO}^-]} = K_2$$

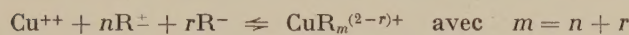
La littérature ne donne à peu près aucun résultat numérique concernant les interactions entre les leucines et les ions. Par contre, on connaît bien les propriétés de l'ion cuivrique en solution et la structure plane carrée de l'ion cuprique quadricovalent est maintenant admise.

Il est donc possible de prévoir les différents composés susceptibles de se former entre le cuivre bivalent et les trois formes ioniques de l'acido-amino.

S'il est peu vraisemblable que les complexes se forment entre les deux ions positifs Cu^{++} et R^+ en milieu très acide, on peut très bien imaginer dans la zone du point isoélectrique des composés entre

Cu^{++} et l'ion bipolaire $\text{R}^{\pm}$ et en solution alcaline entre Cu^{++} et l'ion négatif R^{-} . De plus, la coexistence des formes bipolaire et négative ne permet pas d'éliminer la possibilité de combinaisons simultanées de ces deux formes avec l'ion cuivrique.

La réaction de formation la plus générale sera donc, pour un complexe d'ordre m formé entre un ion Cu^{++} , n ions bipolaires et r ions négatifs :



et la constante apparente correspondante

$$\frac{(\text{Cu}^{++}) (\text{R}^{\pm})^n (\text{R}^{-})^r}{(\text{CuR}_m)} = k_m$$

où les concentrations des différents constituants sont indiquées par des parenthèses ().

Le problème revient donc à déterminer m , c'est-à-dire le nombre de groupements aminoacides liés à l'atome de cuivre et ensuite, pour calculer k_m , les concentrations respectives des divers constituants. Différentes méthodes basées sur la conductimétrie, la potentiométrie, la polarographie et la spectrophotométrie permettent de connaître ces différents facteurs dans le cas de la formation d'un seul complexe. Malheureusement, il y a très souvent coexistence de plusieurs composés; les calculs deviennent très vite inextricables et la précision illusoire. C'est pourquoi nous avons été amenés à mettre au point une méthode qui permet de faire simultanément l'étude qualitative et quantitative des complexes formés, même s'ils coexistent, en déterminant par des mesures de pH la concentration de l'acide aminé libre et par électrométrie celle des ions cuivriques.

L'ensemble de ce travail comprendra :

— L'exposé du principe de la méthode des mesures combinées et les résultats obtenus en l'appliquant à l'étude des complexes cuivriques de la *l*-leucine.

— La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus par la méthode des variations continues de P. JOY en utilisant les mesures électrométriques et spectrophotométriques.

— La comparaison des résultats obtenus par la méthode des mesures combinées avec ceux donnés par la conductimétrie et la polarographie.

— L'étude des complexes cuivriques de l'isoleucine et de la norleucine par la méthode des mesures combinées.

A. — Principe de la méthode des mesures combinées.

L'étude des complexes de l'ion cuivrique et des aminoacides n'est susceptible d'être conduite de manière logique et systématique que dans la mesure

où l'on détermine, indépendamment l'une de l'autre, les concentrations en ions cuivriques et en aminoacide non complexé, dans un mélange et à un pH donnés.

Il est possible, par des mesures potentiométriques faites à l'aide d'une électrode d'amalgame de cuivre, d'atteindre, dans certaines conditions, la concentration des ions cuivriques libres d'une solution. D'autre part, si l'on titre par une base une solution contenant l'acide aminé, la courbe obtenue est différente suivant que celui-ci est ou n'est pas complexé.

En utilisant à la fois la mesure du pH et celle de la concentration (Cu^{++}), faites toutes deux sur une même solution, nous avons pu mettre au point une méthode de calcul qui permet :

1° d'éliminer, parmi tous les complexes possibles, ceux qui n'existent pas en quantité notable;

2° de déterminer la zone de pH dans laquelle l'un seulement des complexes existant prédomine;

3° d'atteindre la concentration de l'acide aminé libre;

4° de calculer la constante de stabilité de chaque complexe mis en évidence.

1. Notations.

Les mesures de pH et de force électromotrice sont effectuées sur des mélanges préparés à partir de deux solutions mères. Celles-ci sont obtenues en dissolvant dans un acide fort HX de titre x des poids déterminés d'acide aminé R pour l'une, et de sel de cuivre $\text{Cu}(\text{X})_2$ pour l'autre.

On titre N cm³ du mélange par une base forte MOH de concentration y .

La présence de l'acide fort permet de parcourir en un seul titrage une zone étendue de pH, de part et d'autre du point isoélectrique.

Nous désignerons par :

b la concentration totale de l'acide aminé.

d la concentration totale des ions cuivriques.

a et a' les concentrations des anions X^{-} de l'acide XH provenant respectivement de la solution mère d'acide aminé et de sel de cuivre, et nous poserons :

$$q = \frac{b}{d}.$$

Dans la plupart des cas, il est impossible d'utiliser une solution de potasse suffisamment concentrée pour qu'il n'y ait pas de variation de volume; on a donc fait les corrections de dilution correspondantes.

D'autre part, pour amener la solution à un pH déterminé, le nombre n de cm³ de potasse ajoutés

est différent selon qu'il y a ou non formation de complexe; nous affecterons donc de l'indice I les concentrations si l'on suppose qu'il ne s'en forme aucun et nous utiliserons l'indice II dans le cas contraire.

2. Équation de la courbe de titrage en l'absence de complexe.

Si l'on suppose qu'il ne se forme aucun complexe au cours du titrage, l'électroneutralité de la solution permet d'écrire l'égalité:

$$(X^-)_I + (OH^-)_I + (R^-)_I = (H^+)_I + 2(Cu^{++})_I + (H^+)_I + (R^+)_I \quad (1)$$

En négligeant les coefficients d'activité, la mesure du pH donne $(H^+)_I$ et $(OH^-)_I$. D'autre part, il est possible, à partir de la concentration totale b de l'acide et de ses deux constantes de dissociation K_1 et K_2 , de calculer, pour un pH donné, les quantités (R^-) et (R^+) .

Par conséquent, connaissant la composition initiale de la solution, on peut calculer le nombre n_I de cm³ de base que l'on doit verser pour obtenir un pH donné, c'est-à-dire tracer *a priori* point par point la courbe de titrage que l'on obtiendrait s'il ne se formait aucun complexe.

En effet, l'équation (1) peut se mettre sous la forme;

$$n_I = [a + a' + (R^-) - (R^+) + (OH^-)_I - (H^+)_I] \frac{N}{y + (H^+)_I - (OH^-)_I} \quad (2)$$

Or nous verrons que les complexes ne se forment qu'à des pH supérieurs à 2. Le début de la courbe expérimentale doit donc se superposer à la courbe calculée. C'est une excellente vérification de l'exactitude des mesures de pH et de la validité de l'hypothèse faite en confondant, pour les concentrations étudiées, les activités et les concentrations.

3. Équations utilisées en présence de complexes.

Il est en général possible, en se basant sur des considérations de structure et de liaisons chimiques, de dresser *a priori* une liste de tous les complexes susceptibles de se former entre l'agent complexant et le métal.

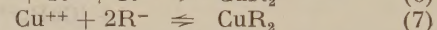
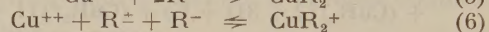
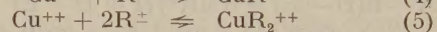
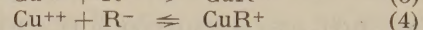
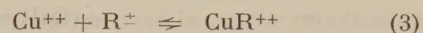
Dans le cas du cuivre et des acides aminés, la formule générale englobant tous les complexes probables est, ainsi que nous l'avons vu précédemment:

$$[CuR_{n+r}]^{2-r+}.$$

Bien que la valeur maximum de $n + r$ soit, dans la plupart des cas, fixée à quatre par la coordinance

du cuivre, ce nombre limite peut être abaissé par l'examen des courbes de titrage. En effet, pour des mélanges dans lesquels le rapport q de la concentration totale en agent complexant à celle de l'ion métal est supérieur à 2, c'est l'acide libre qui est titré en fin d'expérience. En outre, pour $q = 0,5$ et $q = 1$, il y a précipitation d'hydroxyde de cuivre en fin du titrage.

Par conséquent, les seuls complexes dont nous avons à envisager l'existence sont ceux qui obéissent aux équilibres suivants:



Lorsque n_{II} cm³ de base MOH de titre y ont été ajoutés au mélange, les concentrations des différents constituants sont, dans le cas le plus général de la coexistence de ces 5 complexes, reliées par les relations suivantes qui font intervenir l'électroneutralité de la solution, et les concentrations totales en acide et en cuivre.

$$(X^-)_{II} + (OH^-)_{II} + (R^-)_{II} = (R^+)_{II} + (H^+)_{II} + (M^+)_{II} + 2(CuR^{++}) + (CuR^+) + 2CuR_2^{++} + (CuR_2^+) + 2(Cu^{++})_{II} \quad (8)$$

$$b_{II} = (R^+)_{II} + (R^-)_{II} + (R^{\pm})_{II} + (CuR^+) + CuR^{++} + 2(CuR_2) + 2(CuR_2^+) + 2(CuR_2^{++}) \quad (9)$$

$$d_{II} = (Cu^{++})_{II} + (CuR^+) + (CuR^{++}) + (CuR_2) + (CuR_2^+) + (CuR_2^{++}) \quad (10)$$

La combinaison des équations précédentes fait apparaître une quantité entièrement calculable que nous désignerons par z et qui est fonction du pH, de la quantité de base ajoutée et d'acide venant des solutions mères:

$$z = c_{II} + (H^+)_{II} - (OH^-)_{II} - (a + a') \frac{N}{N + n_{II}} \quad (11)$$

où c_{II} représente la concentration dans la solution des ions (M^+) de la base ajoutée. La quantité z peut se mettre également sous la forme:

$$z = (CuR^+) + (CuR_2^+) + 2(CuR_2) + (R^-)_{II} - (R^+)_{II} \quad (12)$$

Posons en outre:

$$D = \frac{(R^+)}{(R^{\pm})} = \frac{(H^+)}{K_1} \quad (13)$$

$$E = \frac{(R^-)}{(R^{\pm})} = \frac{K_2}{(H^+)} \quad (14)$$

$$A = z(1 + D + E) + b_{II}(D - E) \quad (15)$$

$$B = d_{II} - (Cu^{++})_{II} \quad (16)$$

quantités qui sont toutes quatre calculables.

Il est possible de combiner A, B, D et E de six manières différentes de façon à obtenir cinq équations dans chacune desquelles figurent tous les complexes sauf un, jamais le même, et une dans laquelle ils figurent tous. On obtient ainsi :

$$2A - B(1 + 2D) = (\text{CuR}^+)(1 + 2D) - (\text{CuR}^{++})(1 + 2E) + 3(\text{CuR}_2)(1 + 2D) + (\text{CuR}_2^+)(1 + 4D - 2E) - (\text{CuR}_2^{++})(1 - 2D + 4E) \quad (17)$$

$$A - B(1 + 2D) = -(\text{CuR}^{++})(1 + D + E) + (\text{CuR}_2)(1 + 2D) + (\text{CuR}_2^+)(D - E) - (\text{CuR}_2^{++})(1 + 2E) \quad (18)$$

$$A - B(D - E) = (\text{CuR}^+)(1 + D + E) + (\text{CuR}_2)(2 + 3D + E) + (\text{CuR}_2^+)(1 + 2D) + (\text{CuR}_2^{++})(D - E) \quad (19)$$

$$A - 2B(1 + 2D) = -(\text{CuR}^+)(1 + 2D) - (\text{CuR}^{++})(2 + 3D + E) - (\text{CuR}_2^+)(1 + D + E) - 2(\text{CuR}_2^{++})(1 + D + E) \quad (20)$$

$$A - B(1 + 3D - E) = -(\text{CuR}^+)(D - E) - (\text{CuR}^{++})(1 + 2D) + (\text{CuR}_2)(1 + D + E) - (\text{CuR}_2^{++})(1 + D + E) \quad (21)$$

$$A - 2B(D - E) = (\text{CuR}^+)(1 + 2E) - (\text{CuR}^{++})(D - E) + 2(\text{CuR}_2)(1 + D + E) + (\text{CuR}_2^+)(1 + D + E) \quad (22)$$

Remarque. — Ces équations se simplifient suivant la zone de pH considérée. Pour des pH inférieurs à 6, les ions R^- sont négligeables devant les ions R^+ et $\text{R}^{\pm}$ et par conséquent $E \cong 0$. Au contraire, pour des pH supérieurs à 6, c'est D qui est nul. Enfin, E et D sont tous deux négligeables devant 1 aux environs du point isoélectrique.

4. Mise en évidence des complexes existant réellement et détermination de la zone de prédominance de chacun d'eux.

A partir des mesures de pH et de potentiel d'une électrode de cuivre, mesures effectuées pour chaque addition de base, on peut calculer, à partir des concentrations des ions Cu^{++} et H^+ libres et ce, pour autant de valeurs différentes du pH que l'on veut, les 6 quantités qui figurent dans le premier membre des équations (17) à (22) et construire pour chacune d'elles sa courbe de variation en fonction du pH. L'examen de ce réseau de courbes va nous renseigner sur les différents complexes qui apparaissent, ainsi que sur leurs domaines d'existence.

Le faisceau de courbes représenté à titre d'exemple par la figure 1 a été obtenu pour l'isoleucine. On y distingue plusieurs zones de pH :

Zone MN : Les courbes indiquent qu'il ne se forme aucun complexe.

Zone NO : On remarque que pour chaque valeur du pH de cette zone, les ordonnées correspondantes des points situés sur les courbes 17 et 20 sont égales en valeur absolue mais de signe contraire.

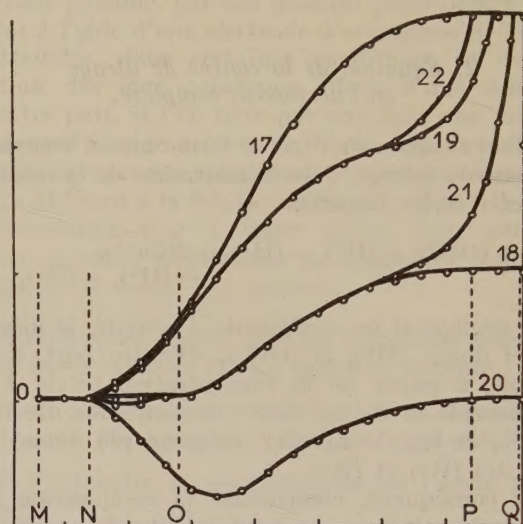


Fig. 1. — Les numéros des courbes sont les mêmes que ceux des équations correspondantes.

De plus, la courbe 21, située d'abord légèrement en dessous de l'axe d'ordonnée nulle, vient ensuite se superposer à la courbe 18 dont les ordonnées sont nulles.

Si l'on se reporte aux équations correspondantes, on voit que la concentration du complexe CuR^+ y est respectivement multipliée par les facteurs $(1 + 2D)$, $-(1 + 2D)$, $-(D - E)$ et zéro. Or dans cette zone de pH, E est négligeable et D le devient très vite; ceci explique la forme de la courbe 21 dont l'ordonnée tend vers 0. Par conséquent, on peut conclure que seul le complexe CuR^+ existe en quantité appréciable dans la solution.

Zone PQ : Au delà du point P, tous les points situés sur la courbe 20 ont une ordonnée nulle alors que ceux des courbes 18 et 17 ont les leurs dans le rapport de 1 à 3.

Si l'on remarque que, dans les équations correspondantes (20), (18) et (17), la concentration du complexe CuR_2 est multipliée respectivement par les facteurs zéro, $(1 + 2D)$ et $3(1 + 2D)$, on voit que, dans cette zone de pH, le composé CuR^+ a pratiquement disparu et que seul CuR_2 existe en quantité appréciable.

Zone OP : Entre les points O et P, les deux complexes CuR^+ et CuR_2 coexistent.

La courbe 20 dont l'équation ne renferme pas CuR_2 montre que la concentration de CuR^+ passe par un maximum, puis tend vers zéro.

La courbe 18, dont l'équation ne renferme pas CuR^+

montre que la concentration de CuR_2 augmente, et tend vers une limite imposée par la concentration totale de cuivre dans la solution.

Les ordonnées des courbes 19, 21 et 22 augmentent rapidement à partir d'un certain pH car, dans les équations correspondantes, la concentration du complexe CuR_2 est multipliée par des facteurs où intervient la quantité E qui n'est plus négligeable et qui croît très vite avec le pH.

Cet exemple illustre le fait qu'on peut généralement, par ce procédé déterminer la formule des complexes qui apparaissent dans la solution et le domaine d'existence de chacun d'eux. Si on répète la même opération sur plusieurs mélanges dans lesquels le rapport q des quantités totales d'acide et de cuivre varie, il est possible de tracer le diagramme des zones d'existence des différents complexes, en fonction du pH et de la composition des solutions.

5. Détermination de la concentration de l'acide libre et calcul des constantes.

Les résultats obtenus par l'étude qualitative permettront en général de simplifier le système des équations (9), (10) et (11). Nous examinerons successivement les cas qui se sont présentés et la manière de les résoudre.

a) *Un seul complexe se forme.* — Si nous supposons que l'étude qualitative met en évidence le complexe CuR^+ ou CuR_2 seul, l'équation (10) donne la concentration du complexe et les équations (9) et (11) celle de $(\text{R}^\pm)_{\text{II}}$. On obtient la concentration de $(\text{R}^-)_{\text{II}}$ d'après :

$$(\text{R}^-)_{\text{II}} = \frac{b_{\text{II}} - z}{1 + 2D} \cdot E \quad (23)$$

La constante apparente de stabilité qui est donnée par l'expression :

$$\frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)_{\text{II}}}{(\text{CuR}^+)} = k'_1 \text{ pour } \text{CuR}^+$$

ou par $\frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)_{\text{II}}^2}{(\text{CuR}_2)} = k'_2 \text{ pour } \text{CuR}_2$

peut être calculée sans difficulté.

b) *Deux complexes se forment simultanément.* — Si nous supposons que seuls les deux complexes

et permet de calculer $(\text{R}^-)_{\text{II}}$ par la relation (23). De plus, si nous posons :

$$C = \frac{d_{\text{II}} - (\text{Cu}^{++})_{\text{II}}}{(\text{Cu}^{++})_{\text{II}} (\text{R}^-)_{\text{II}}} \quad (24)$$

C est une quantité entièrement calculable qui peut se mettre sous la forme :

$$C = \frac{1}{k'_1} + \frac{1}{k'_2} (\text{R}^-)_{\text{II}} \quad (25)$$

Par conséquent, si on trace la courbe représentant les variations de C en fonction de $(\text{R}^-)_{\text{II}}$, on obtiendra une droite dont l'ordonnée à l'origine donne k'_1 et la pente k'_2 .

c) *Plus de deux complexes se forment simultanément.* — Le système général formé par les équations (9), (10) et (11) pourra toujours être résolu s'il existe, dans ces relations, une symétrie telle que l'on puisse obtenir une équation qui donne la valeur de $(\text{R}^\pm)_{\text{II}}$ pour chaque pH. Connaissant la concentration $(\text{Cu}^{++})_{\text{II}}$ des ions cuivriques non complexés de la solution et la somme des concentrations des complexes, on peut toujours, en prenant suffisamment de valeurs du pH dans la zone étudiée, obtenir un système de n équations à n inconnues qui permet de résoudre complètement le problème.

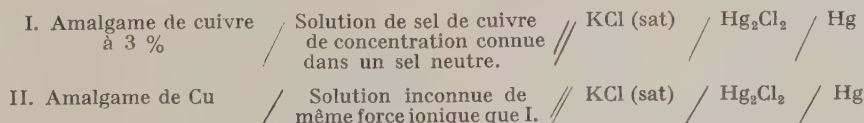
B. — Méthode de mesure et appareillage.

La méthode des mesures combinées nécessite donc la mesure du pH et celle de la concentration des ions cuivriques de la solution.

1. Mesure de la concentration des ions cuivriques.

La mesure de la concentration des ions cuivriques est effectuée à l'aide d'une électrode à amalgame de cuivre à deux phases couplée avec une électrode au calomel. GETMAN a montré ⁽¹⁾ que l'amalgame, préparé par électrolyse, se comporte comme un cristal de cuivre unique et les conditions d'emploi de cette électrode ont été maintes fois précisées ^(2, 3, 4).

Si nous considérons les deux chaînes :



CuR^+ et CuR_2 se forment simultanément, le système général des équations (9), (10) et (11) se simplifie

leurs forces électromotrices sont respectivement pour une certaine température :

$$E_I = E_c - E_{Cu}^0 - 2,3026 \frac{RT}{2F} \log(Cu^{++})_I \cdot f_{Cu} + \pi \quad (26)$$

$$E_{II} = E_c - E_{Cu}^0 - 2,3026 \frac{RT}{2F} \log(Cu^{++})_{II} \cdot f_{Cu} + \pi' \quad (27)$$

où E_c représente le potentiel de l'électrode de référence.

E_{Cu}^0 le potentiel normal de l'électrode d'amalgame de cuivre.

$(Cu^{++})_I$ la concentration connue des ions cuivriques de la solution I.

$(Cu^{++})_{II}$ la concentration inconnue des ions cuivriques de la solution II.

f_{Cu} le coefficient d'activité de l'ion Cu^{++} qui est le même dans les solutions I et II puisque la force ionique μ est la même.

π et π' les potentiels de diffusion correspondant aux deux jonctions liquides différentes.

Si on trace la courbe $E_I = f(\log(Cu^{++})_I)$, on obtient une droite de pente rigoureusement égale à :

$$- 2,3026 \frac{RT}{2F}$$

La quantité $E_c - E_{Cu}^0 + \pi$ est donc constante. Puisque les potentiels E_c et E_{Cu}^0 sont constants pour une température déterminée, il en ressort que le potentiel π de diffusion est constant ou nul; autrement dit, il est indépendant de la concentration des ions cuivriques et ne dépend que de la jonction sel neutre//KCl saturé. Il est vraisemblable qu'il en est de même dans la solution II. Par conséquent, dans la zone de concentration étudiée,

$$\pi = \pi' = \text{constante.}$$

Dans ces conditions, les relations (26) et (27) donnent :

$$\log(Cu^{++})_{II} = \log(Cu^{++})_I + \frac{E_I - E_{II}}{2,3026 \frac{RT}{2F}} \quad (28)$$

2. Appareillage.

La mesure simultanée du pH et de la concentration des ions cuivriques libres est effectuée dans une même cellule.

Le pH de la solution est mesuré à l'aide de l'électrode de verre A et de l'électrode de référence B (électrode au calomel à KCl saturé), qui sont reliées au pH mètre (Radiometer type 22 à 0,05 unité pH près) par des fils blindés dont la gaine est mise à la terre.

La concentration des ions cuivriques de la solution est déterminée en mesurant le potentiel de l'électrode à amalgame de cuivre (à 3 % de cuivre). Ce dernier est contenu dans une sorte de cuiller en

verre, qui peut glisser verticalement par rapport au contact fixe, de façon que le changement d'amalgame soit aisé.

Un pont d'agar-agar relie la solution à titrer à un récipient intermédiaire contenant une solution saturée de KCl dans laquelle plonge le siphon d'une électrode de référence analogue à B. Le montage d'opposition utilise un potentiomètre AOIP au 1/10^e de millivolt et un galvanomètre AOIP de sensibilité 3.10⁻⁹ amp/mm.

La cellule est immergée dans un thermostat à eau réglé à 0,05° C près.

La solution titrante est ajoutée grâce à une burette au 1/20^e de cm³ à graduation large. Après chaque addition de base, on fait barbotter pendant 5 à 10 mn, de l'azote spécial R purifié sur colonne d'hydrosulfite et la solution est homogénéisée par un agitateur magnétique. Les mesures sont alors faites toutes les minutes jusqu'à obtention de l'équilibre. Chaque titrage a été répété plusieurs fois afin d'être certain de la reproductibilité des mesures.

Tous les produits employés sont des produits RP purs pour analyse, recristallisés plusieurs fois, à l'exception des acides aminés, produits HOFMAN-LAROCHE de pureté garantie.

C. — Application aux complexes de la L. Leucine.

Cette étude a été effectuée en utilisant deux solutions mères, l'une de L-leucine 0,02 M dans l'acide sulfurique 0,0072 M et l'autre de sulfate de cuivre 0,02 M dans l'acide sulfurique (0,0107 M).

A partir de ces solutions, on prépare des mélanges dans lesquels le rapport q de la concentration totale de la L-leucine à celle du cuivre est connu ($q = 0,5, 1, 2$ ou 3). Leur titrage et celui des solutions mères est effectuée à l'aide d'une solution de potasse soigneusement décarbonatée et fraîchement préparée de titre 0,1665 M.

1. Courbes de titrage des mélanges.

On a tracé, sur les figures 2, 3 et 4, les courbes de titrage obtenues. Les courbes I représentent les volumes n_1 de potasse nécessaires pour amener les solutions à un pH déterminé, en supposant qu'il ne se forme aucun complexe et que l'hydroxyde de cuivre ne précipite pas. On a tenu compte du fait que les solutions mères contenaient H_2SO_4 et non un monoacide, et que l'on a en présence des ions SO_4^{--} , SO_4H^- et H^+ .

Les courbes II et III représentent respectivement, d'après les mesures expérimentales, les variations du pH et de la différence $E_I - E_{II}$ des forces élec-

tromotrices, en fonction du volume n_{II} de potasse ajoutée.

a) Mélange $q = 0,5$ (figure 2). — La solution de départ est à $pH = 2,25$. A partir de $pH = 3,00$, on

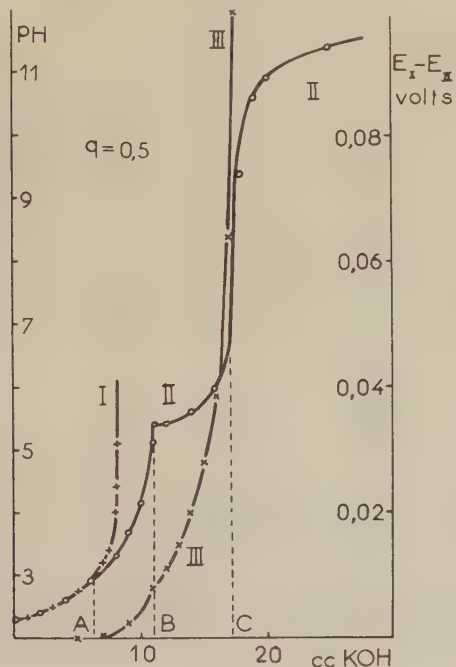


Fig. 2.

remarque que la légère coloration bleu-vert initiale s'accroît peu à peu au fur et à mesure des additions de potasse jusqu'à $pH = 5,40$ environ. Simultanément, les courbes I et II s'écartent l'une de l'autre et les ordonnées de la courbe III augmentent.

Il y a donc disparition d'une partie des ions cuivriques par complexion.

A partir de $pH = 5,40$, un louche apparaît dans la solution, tandis que l'électrode à amalgame de cuivre s'équilibre plus lentement. Il apparaît une cassure dans les courbes II et III. Le pH croît très lentement d'abord, puis brusquement lorsqu'il n'existe plus d'ions cuivriques en liberté dans la solution. Cette zone BC correspond à la précipitation des ions cuivriques non complexés, à l'état d'hydroxyde de cuivre. Si on laisse la solution à l'air pendant 8 à 10 h après le titrage, il se dépose un précipité brun d'oxyde de cuivre.

b) Mélange $q = 1$ (figure 3). — Les courbes présentent une allure générale similaire, avec cependant un accident supplémentaire entre les pH 4,80 et 5,40 (zone BC) tandis que l'on observe la formation d'un précipité granuleux bleu pâle qui, étant donné l'aspect de la courbe III, se forme vraisemblablement à partir du complexe. On peut très bien ima-

giner la combinaison :

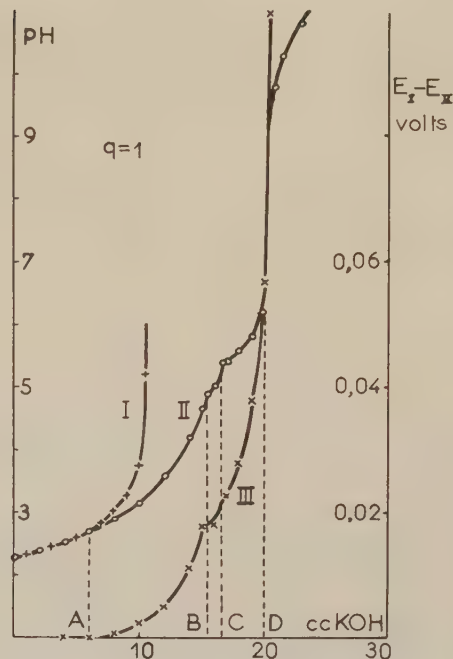
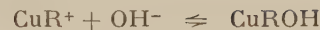


Fig. 3.

c) Mélange $q = 2$ (figure 4). — Dans ce système de courbes, on retrouve le même nombre d'accidents

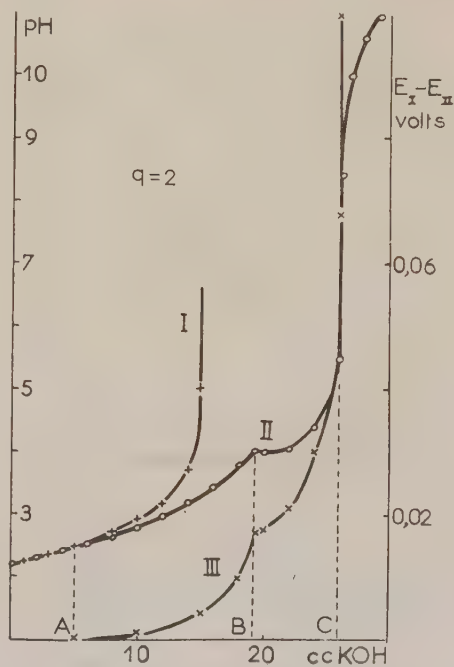


Fig. 4.

que pour le mélange $q = 0,5$. Toutefois, dans le cas

présent, on n'observe pas de précipité colloïdal d'hydroxyde de cuivre. Tous les ions Cu^{++} ont été complexés, et une partie a été ensuite précipitée à l'état de $\text{Cu} - \text{R} - \text{OH}$ bleu pâle.

d) *Mélange $q = 3$.* — Le titrage de ce mélange a été effectué sans mesurer la concentration des ions cuivriques libres. La forme de la courbe obtenue indique toutefois qu'il reste des ions R^- non complexés en fin de titrage. Comme d'autre part, on a vu que pour les mélanges $q = 0,5$ et $q = 1$ l'hydroxyde de cuivre précipite au cours de l'expérience, on peut admettre que les complexes CuR_m formés sont tels que :

$$1 \leq m < 3.$$

2. Formules et zones d'existence des complexes.

A partir des données expérimentales, des courbes de titrage, et des valeurs $K_1 = 4,688 \cdot 10^{-3}$ et $K_2 = 1,791 \cdot 10^{-10}$ des constantes de dissociation de la *l*-leucine données par SMITH (5), nous avons déterminé, pour chaque valeur du pH de 0,1 en 0,1 unité jusqu'à la précipitation, le volume n_{II} de potasse versée et calculé la quantité z d'après la relation (11), la concentration $(\text{Cu}^{++})_{\text{II}}$ des ions cuivriques libres d'après la relation (28) et les quantités D, E, A et B d'après les relations (13) à (16).

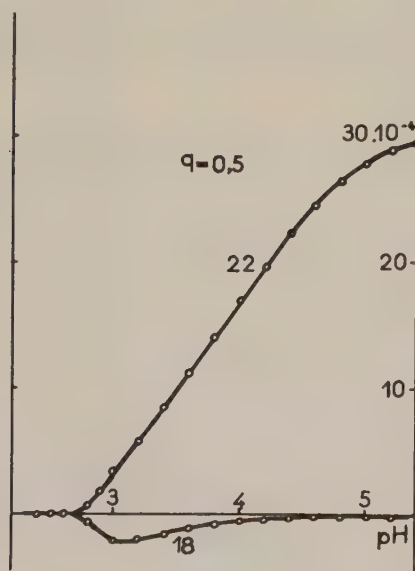


Fig. 5.

Ces dernières nous ont permis de tracer, en fonction du pH, les variations des quantités

$$\begin{array}{ll} 2A - B(1 + 2D), & A - B(1 + 2D), \\ A - B(D - E), & A - 2B(1 + 2D), \\ A - B(1 + 3D - E) & \text{et} \quad A - 2B(D - E) \end{array}$$

dont les significations respectives sont données par les équations (17) à (22).

Nous avons représenté sur la figure 5 les variations des quantités $A - B(1 + 2D)$ (courbe 18) et

$$A - 2B(D - E) \quad (\text{courbe } 22)$$

en fonction du pH pour $q = 0,5$.

On remarque que les courbes obtenues sont analogues à celles de la zone NO de la figure 1 qui, nous l'avons vu, montre la présence du CuR^+ seul.

Pour les mélanges $q = 1$ et $q = 2$, nous avons obtenu des faisceaux de courbes analogues à ceux de la zone OP de la figure 1 ce qui indique la coexistence des deux composés CuR^+ et CuR_2 .

On a tracé, d'autre part, sur la figure 6, en fonction du pH et de q , les zones d'existence des diffé-

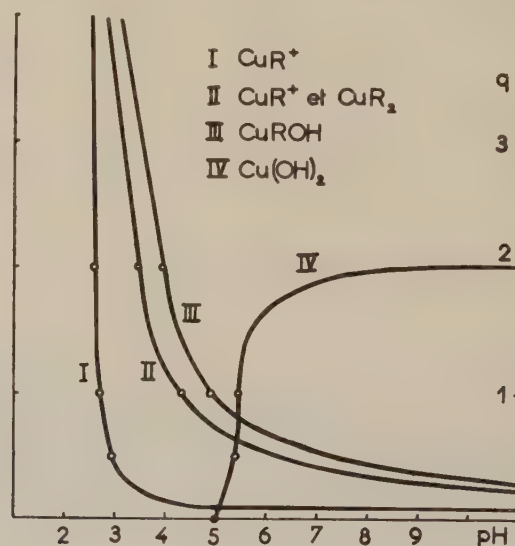


Fig. 6.

rents précipités et complexes susceptibles de se former dans le domaine des concentrations utilisées. Les courbes I et II représentent respectivement les limites inférieures d'existence du complexe CuR^+ seul, et du mélange CuR^+ et CuR_2 . Les courbes III et IV montrent les limites de précipitation des hydroxydes CuROH et Cu(OH)_2 .

3. Détermination de (R^-) et constantes d'équilibre des complexes.

Dans le mélange $q = 0,5$ où seul le complexe CuR^+ existe en quantité appréciable, le calcul de la constante de stabilité k'_1 est immédiat puisque les quantités $(\text{Cu}^{++})_{\text{II}}$ $(\text{R}^-)_{\text{II}}$ et (CuR^+) sont connues.

Le tableau I donne les valeurs numériques de ces différentes concentrations; bien qu'elles aient été On peut donc calculer la quantité C définie par la relation (24) et tracer la courbe des variations de C

TABLEAU I

Mélange $q = 0,5$ $\mu = \Sigma c_i z_i^2 = 0,10$ M		$a = 12,07 \cdot 10^{-4}$ M $a' = 33,90 \cdot 10^{-4}$ M $t^o = 25^o$ C $K_1 = 4,688 \cdot 10^{-3}$	$b = 33,33 \cdot 10^{-4}$ M $d = 66,67 \cdot 10^{-4}$ M $y = 0,1665$ N $K_2 = 1,791 \cdot 10^{-10}$		
<u>pH</u>	<u>$n_{II} \text{cm}^3$</u>	<u>$(\text{Cu}^{++})_{II}$</u>	<u>B = (CuR^+)</u>	<u>$(\text{R}^-)_{II}$</u>	<u>pk_1</u>
2,70	4,60	$64,68 \cdot 10^{-4}$ N	$0,00 \cdot 10^{-4}$ M	$2,03 \cdot 10^{-10}$ M	—
2,90	6,00	63,86 —	0,24 —	3,47 —	7,03
3,00	6,62	63,12 —	0,72 —	4,33 —	7,42
3,20	7,52	60,70 —	2,78 —	6,76 —	7,83
3,40	8,27	57,25 —	5,93 —	9,87 —	8,02
3,60	8,80	53,99 —	8,97 —	14,33 —	8,06
3,80	9,27	50,53 —	12,25 —	19,73 —	8,09
4,00	9,70	46,73 —	15,89 —	25,79 —	8,12
4,20	10,05	43,57 —	18,91 —	32,92 —	8,12
4,40	10,35	40,77 —	21,59 —	40,37 —	8,12
4,60	10,60	38,30 —	23,96 —	47,59 —	8,12
4,80	10,80	36,40 —	25,78 —	53,79 —	8,12
5,00	10,95	34,74 —	27,38 —	59,28 —	8,12
5,20	11,06	33,67 —	28,41 —	63,00 —	8,13
5,40	11,12	33,28 —	28,78 —	74,70 —	8,06

calculées pour chaque pH de dixième en dixième d'unité, nous ne les avons fait figurer que de deux en deux pour alléger le tableau.

Les valeurs trouvées pour pk_1' sont remarquablement constantes, puisque pour 18 pH différents, la moyenne obtenue est :

$$pk_1' = 8,11 \pm 0,01.$$

Dans les autres mélanges, le composé CuR^+ se forme d'abord, puis CuR_2 coexiste avec lui lorsque le pH s'élève. On connaît les concentrations $(\text{Cu}^{++})_{II}$ et $(\text{R}^-)_{II}$ et la quantité B qui représente dans ce cas la somme des concentrations des deux complexes.

en fonction de $(\text{R}^-)_{II}$. Le tableau II donne les valeurs numériques de n_{II} , $(\text{Cu}^{++})_{II}$, B, $(\text{R}^-)_{II}$ et C trouvées pour le mélange $q = 2$.

Le tracé de la courbe $C = f(R^-)_{II}$ donne une droite dont l'ordonnée à l'origine et la pente correspondent à :

$$pk_1' = 8,11 \quad \text{et} \quad pk_1' = 15,84.$$

D. — Discussion des résultats.

La méthode des mesures combinées permet de mettre en évidence, dans les conditions expérimentales,

TABLEAU II

Mélange $q = 2$ μ moyen = 0,10 M		$a = 48,29 \cdot 10^{-4}$ M $a' = 33,90$ — $t^{\circ} = 25^{\circ}$ C $K_1 = 4,688 \cdot 10^{-3}$	$b = 133,33 \cdot 10^{-4}$ M $d = 66,67$ — $y = 0,1665$ N $K_2 = 1,791 \cdot 10^{-10}$		
pH	$n_{II} \text{cm}^3$	$(\text{Cu}^{++})_{II}$	$B = (\text{CuR}^+) + (\text{CuR}_2)$	$(\text{R}^-)_{II}$	C
—	—	—	—	—	—
2,50	5,35	$64,36 \cdot 10^{-4}$ M	$0,00 \cdot 10^{-4}$ M	$4,32 \cdot 10^{-10}$ M	$0,00 \cdot 10^6$
2,60	7,20	63,38 —	0,24 —	5,75 —	6,59 —
2,70	8,80	61,44 —	1,54 —	7,55 —	33,19 —
2,80	10,32	58,86 —	3,52 —	9,80 —	61,00 —
2,90	11,62	55,94 —	5,94 —	12,58 —	84,37 —
3,00	12,82	52,76 —	8,66 —	15,90 —	103,21 —
3,10	13,82	49,57 —	11,47 —	20,05 —	115,39 —
3,20	14,75	45,84 —	14,86 —	24,95 —	129,90 —
3,30	15,55	41,91 —	18,50 —	30,96 —	142,52 —
3,40	16,27	37,86 —	22,28 —	38,10 —	154,51 —
3,50	16,92	34,35 —	25,26 —	46,72 —	159,25 —
3,60	17,52	30,43 —	29,27 —	56,91 —	169,00 —
3,70	18,10	26,65 —	32,84 —	68,53 —	179,84 —
3,80	18,65	23,16 —	36,14 —	82,61 —	188,91 —
3,90	19,12	19,81 —	39,32 —	99,55 —	199,39 —
4,00	19,60	16,75 —	42,21 —	118,90 —	211,89 —

tales utilisées, deux complexes cuivriques de la *l*-leucine et deux seulement susceptibles de se former en quantité appréciable : un ion Cu^{++} pouvant être lié soit à un, soit à deux ions négatifs de l'acide selon les équilibres :



De plus, le composé CuR^+ peut être précipité à l'état d'hydroxyde :



La justification de cette formule CuROH sera faite ultérieurement pour la norleucine où l'absence de complexe CuR_2 rend la démonstration plus claire.

Les constantes apparentes de stabilité des complexes définies par :

$$\frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)}{(\text{CuR}^+)} = k_1' \quad \text{et} \quad \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)^2}{(\text{CuR}_2)} = k_2'$$

ont pu être déterminées et les résultats obtenus sont parfaitement concordants pour les différents mélanges étudiés dont la force ionique moyenne est 0,10 M.

$$pk_1' = 8,11 \quad pk_2' = 15,84.$$

De plus en utilisant les valeurs de (CuR^+) et (OH^-) déterminées pour le pH le plus voisin possible de l'apparition du précipité CuROH , on a pu calculer l'ordre de grandeur de son produit de solubilité :

$$S = (\text{CuR}^+)(\text{OH}^-) \approx 1 \cdot 10^{-13}.$$

Afin de soumettre la méthode des mesures combinées à un examen critique, nous comparerons ultérieurement les résultats obtenus précédemment avec ceux donnés par des méthodes éprouvées : Méthode des variations continues de P. Job — conductimétrie et polarographie.

CHAPITRE II

II. — L. Leucine. Méthode des variations continues,

INTRODUCTION

Après avoir effectué l'étude des complexes de la L-leucine en utilisant la méthode des mesures combinées, il était indispensable de vérifier les résultats obtenus en employant d'autres techniques déjà éprouvées. Parmi ces dernières, celle des variations continues nous a paru la plus apte à jouer ce rôle, et c'est pourquoi nous l'avons utilisée en premier.

A. — Principe de la méthode des variations continues.

La méthode des variations continues de P. JOB ^(6,7) a été maintes fois utilisée pour la mise en évidence des complexes, en particulier pour l'étude des complexes de la glycine par BOROOK ⁽⁸⁾, I. KLOTZ ⁽¹⁰⁾ et M. QUINTIN ⁽⁹⁾.

Elle consiste à étudier les mélanges constitués par :

x cm³ d'une solution de sel de cuivre de concentration moléculaire a et $(1 - x)$ cm³ d'une solution d'acide aminé de concentration moléculaire a , pour toutes les valeurs de x comprises entre 0 et 1. On opère en présence d'un sel neutre qui ne donne de complexes ni avec les ions cuivriques, ni avec l'acide aminé et dont la concentration c est suffisamment élevée pour que la force ionique μ soit la même dans tous les mélanges.

S'il se forme entre les ions métalliques et l'acide aminé un seul complexe d'après l'équilibre :



on montre que la valeur de m peut être déterminée à partir de l'abscisse x_m correspondant au maximum de la courbe des variations de la concentration du complexe en fonction de x par l'expression :

$$m = \frac{1 - x_m}{x_m} \quad (30)$$

La constante apparente de stabilité k'_m d'un tel complexe peut être calculée par la relation (31) qui fait intervenir notamment la concentration (CuR_m) du complexe, (Cu^{++}) des ions cuivriques non complexés, le nombre m , les constantes de dissociation K_1 et K_2 de l'acide aminé et l'activité des ions hydrogène.

$$k'_m = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^{\pm})^m}{(\text{CuR}_m)} = \frac{(\text{Cu}^{++}) [a(1 - x) - m(\text{CuR}_m)]^m}{(\text{CuR}_m) \left[1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[\text{H}^+]} \right]^m} \quad (31)$$

Dans ces conditions, il suffit de connaître m et l'une des deux concentrations (Cu^{++}) ou (CuR_m) puisque l'autre s'en déduit par simple différence. Nous avons utilisé successivement ces deux possibilités.

soit en déterminant (Cu^{++}) par électrométrie,
soit en déterminant (CuR_m) par spectrophotométrie.

1. Mesures électrométriques.

Les mesures électrométriques ont été effectuées à

l'aide d'une électrode à amalgame de cuivre à 3 %.
Si nous considérons les deux chaînes :

pH mètre Radiometer type 22 dont la précision est 0,05 unité pH et ajustée avec une ou deux

- I. — Amalgame de cuivre $\left/ \begin{array}{l} x \text{ cc CuSO}_4, 2a \text{ dans K}_2\text{SO}_4, c \\ (2-x) \text{ cc K}_2\text{SO}_4, c \end{array} \right/ \text{KCl(sat)}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}$
II. — Amalgame de cuivre $\left/ \begin{array}{l} x \text{ cc CuSO}_4, 2a \text{ dans K}_2\text{SO}_4, c \\ (1-x) \text{ cc 1-leucine, } 2a \text{ dans K}_2\text{SO}_4, c \\ 1 \text{ cc K}_2\text{SO}_4, c \end{array} \right/ \text{KCl(sat)}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2/\text{Hg}$

On montre que, dans les conditions expérimentales utilisées, la concentration des ions cuivriques non complexés de la solution II peut être calculée par l'expression :

$$\log(\text{Cu}^{++}) = \log ax + \frac{E_I - E_{II}}{2,3026 \frac{RT}{2F}} \quad (32)$$

2. Mesures spectrophotométriques.

Si un faisceau incident de longueur d'onde λ et d'intensité I_0 traverse une épaisseur donnée de la solution II contenant l'acide, et que l'on mesure au spectrophotomètre l'intensité I de la même radiation dans le faisceau émergent, la densité optique Δ de la solution est définie par :

$$\Delta = \log \frac{I_0}{I} \quad (33)$$

Étant donné que la solution de l-leucine dans le sulfate de potassium n'absorbe pas pour les longueurs d'onde utilisées, la densité optique mesurée pour une épaisseur de solution de 1 cm sera la somme de celles relatives aux ions cuivriques libres et aux complexes colorés; s'il n'y avait pas formation de complexes, la densité optique de la solution serait :

$$\Delta_0 = \epsilon_0 ax \quad (34)$$

Par conséquent,

$$\Delta - \Delta_0 = (\epsilon_1 - \epsilon_0) (\text{CuR}) + (\epsilon_2 - \epsilon_0) (\text{CuR}_2) + \dots + (\epsilon_m - \epsilon_0) (\text{CuR}_m) \quad (35)$$

$\epsilon_0, \epsilon_1, \dots, \epsilon_m$ étant respectivement les coefficients d'extinction moléculaire des ions cuivriques et des complexes $\text{CuR}, \dots, \text{CuR}_m$.

S'il existe une zone de pH dans laquelle l'un des complexes, CuR_m par exemple, est largement prédominant, et qu'on se place à une longueur d'onde telle que toutes les quantités $(\epsilon - \epsilon_0)$ soient voisines de zéro sauf $(\epsilon_m - \epsilon_0)$, la quantité $\Delta - \Delta_0$ sera maximum ou minimum en fonction de x en même temps que (CuR_m) et dans ces conditions, l'abscisse correspondante sera reliée à m par la relation (30).

B. — Appareillage et produits.

Les pH des solutions sont mesurées à l'aide d'un

gouttes d' H_2SO_4 ou de KOH de concentration convenable.

1. Électrométrie.

Les mesures électrométriques sont faites à l'aide d'un montage classique d'opposition utilisant un potentiomètre AOIP au $1/10^6$ de millivolt et d'un galvanomètre de même marque de sensibilité 3.10^{-9} ampère par mm.

La cellule de mesure est constituée par l'électrode à amalgame de cuivre reliée, par l'intermédiaire de siphons et d'un vase contenant KCl saturé, à une électrode de référence (électrode au calomel à KCl saturé). L'ensemble est plongé dans un thermostat à eau dont la température est maintenant constante à $25 \pm 0,1^\circ \text{C}$ par une résistance électrique couplée avec un autorégulateur SERVO-CONTACT et un thermomètre à contact VERTEX au $1/20^\circ$ de degré.

Avant chaque mesure, les solutions à étudier sont débarrassées de l'oxygène par barbotage prolongé d'azote spécial R purifié sur colonne à hydrosulfite et lavé dans des colonnes à acide sulfurique et eau.

L'amalgame de cuivre est changé à chaque mesure et lavé plusieurs fois avec de l'eau puis avec la solution à étudier. Pour chaque solution, on attend que l'électrode soit à l'équilibre, ce qui peut être assez long en milieu neutre ou légèrement alcalin.

2 Spectrophotométrie.

Les mesures d'absorption sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre Beckman type DU, en réglant la largeur de la fente au minimum d'ouverture compatible avec les longueurs d'onde utilisées. On a employé, suivant la concentration des solutions, des cuves de 1 ou 10 cm et les résultats ont été rapportés à une épaisseur de 1 cm.

3. Produits utilisés.

Les produits utilisés, sulfate cuivrique à 5 molécules d'eau, sulfate et chlorure de potassium, sont des produits RP pour analyse et recristallisés plu-

sièurs fois. La *l*-leucine est le produit biologique HOFMAN-LAROCHE. Le mercure utilisé pour la confection de l'amalgame de cuivre et pour celle de l'électrode de référence a été distillé après purification électrolytique et lavage dans une colonne d'acide nitrique à 10 %. Sa pureté a été vérifiée spectrographiquement.

C. — Résultats obtenus par les mesures électrométriques.

Les mesures ont été effectuées sur des séries de solutions à différents pH : 2,10 — 2,85 — 3,10 — 3,20 — 3,75 — 4,20 — 4,50 — 5,00 — 5,60 — 6,00 — 6,15 — 6,40 — 6,80 — 6,90 — 7,35 — 8,20 — 8,30 — 8,60 — 8,80.

Toutes les séries jusqu'à pH = 4,50 comprennent des solutions telles que $a = 100 \cdot 10^{-4}$ M. A partir de pH = 5,00 nous avons dû diminuer la concentration a car il apparaît pour des pH plus alcalins un phénomène de précipitation qui est retardé lorsque les concentrations en sulfate de cuivre et en *l*-leucine sont plus faibles; cette précipitation s'étend de proche en proche lorsque le pH augmente depuis le mélange $x = 0,9$ jusqu'au mélange $x = 0,1$, qu'elle atteint pour pH = 8,90 environ.

De ce fait, $a = 50 \cdot 10^{-4}$ M pour toutes les séries entre pH = 5,00 et 6,00. Au delà, $a = 25 \cdot 10^{-4}$ M. Par contre la concentration c reste la même pour tous les pH : $c = 50 \cdot 10^{-2}$ M.

On doit noter d'autre part que l'oxydation de l'amalgame de cuivre se fait de plus en plus facilement au fur et à mesure que le pH de la solution augmente. Les mesures sont, de ce fait, beaucoup plus délicates dès pH = 6. Pour un même pH, l'oxydation est moins rapide si un aminoacide est présent dans la solution de sulfate de cuivre; ce ralentissement dépend de la nature de l'acide; il est plus grand avec l'isoleucine qu'avec la *l*-leucine ou la norleucine.

1. Mesures effectuées de pH = 2 à pH = 6,15.

Pour toutes les séries de mesures effectuées, les courbes

$$E_I = f(\log x) \quad \text{et} \quad E_{II} = f(\log x)$$

ont l'allure de celles représentées par la figure 7. On a vérifié que toutes les droites E_I ont une pente rigoureusement égale à $-2,3026 \frac{RT}{2F}$. Nous n'avons fait les calculs que lorsque les différences $E_I - E_{II}$

étaient suffisamment grandes pour que les erreurs soient minimales.

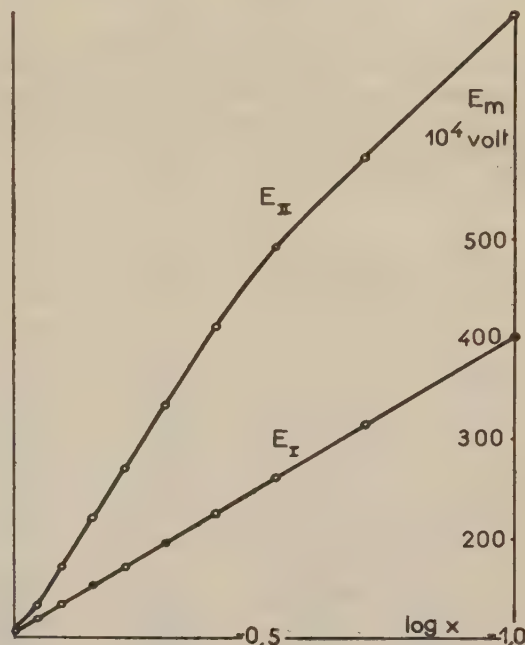


Fig. 7.

La figure 8 qui représente à titre d'exemple la variation de la concentration du complexe formé

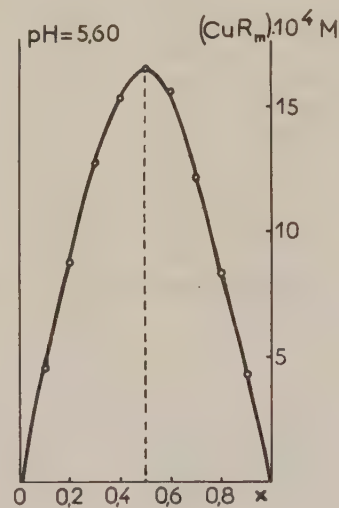


Fig. 8.

en fonction de x pour la série à pH = 5,60, montre que (CuR_m) est maximum pour $x = 0,5$, ce qui correspond, d'après la relation (30), à $m = 1$.

Il en est de même pour toutes les séries jusqu'à pH = 6,15.

Le tableau III donne l'ensemble des résultats

numériques obtenus à différents pH, et notamment le facteur

$$A = 1 + \frac{[H^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[H^+]}$$

calculé en utilisant les valeurs de K_1 et K_2 données par SMITH ⁽⁶⁾, la concentration (Cu^{++}) des ions cuivriques libres d'après l'équation (32), celle (CuR_m) du complexe, obtenue par différence, et la constante k'_m donnée par l'équation (31) en faisant $m = 1$.

L'ensemble des résultats numériques et graphiques obtenus dans cette zone de pH paraît donc indiquer la formation d'un complexe de type CuR .

2. Mesures effectuées de pH = 6,40 à pH = 8,80.

Pour des pH plus élevés que 6,15, il n'est plus possible de tracer la courbe complète représentant les variations de la concentration du complexe en

TABLEAU III

$\mu = 3 M$ $= \Sigma c_i z_i^2$	x	$(Cu^{++}) \cdot 10^4$ mol. g/l	$(CuR_m) \cdot 10^4$ mol. g/l	pk'_m	pk'_m moyen
pH = 3,20 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,141 $m = 1$	0,1	0,93	0,97	1,14	1,13 $\pm$ 0,02
	0,2	18,35	1,65	1,12	
	0,3	27,75	2,25	1,14	
	0,4	37,29	2,71	1,16	
	0,5	47,34	2,66	1,13	
	0,6	57,70	2,30	1,08	
	0,7	67,85	2,15	1,11	
	0,8	78,15	1,85	1,17	
	0,9	88,61	1,39	(1,31)	
	1,0	100,00	0,00		
pH = 3,75 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,038 $m = 1$	0,1	7,67	2,33	1,56	1,54 $\pm$ 0,02
	0,2	15,95	4,05	1,54	
	0,3	24,68	5,32	1,54	
	0,4	33,69	6,31	1,56	
	0,5	43,11	6,89	1,59	
	0,6	53,79	6,21	1,55	
	0,7	64,74	5,26	1,53	
	0,8	76,34	3,66	1,48	
	0,9	87,23	2,77	(1,65)	
pH = 4,20 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,014 $m = 1$	0,1	4,23	5,77	(2,21)	2,02 $\pm$ 0,03
	0,2	10,54	9,46	(2,11)	
	0,3	17,92	12,08	2,07	
	0,4	26,24	13,76	2,06	
	0,5	36,03	13,97	2,04	
	0,6	4,47	12,53	1,99	
	0,7	58,95	11,05	2,00	
	0,8	72,28	7,72	1,96	
	0,9	85,21	4,79	2,04	
pH = 5,00 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,002 $m = 1$	0,1	0,96	4,04	(3,02)	2,87 $\pm$ 0,02
	0,2	2,47	7,53	(2,97)	
	0,3	5,11	9,89	2,89	
	0,4	8,61	11,39	2,86	
	0,5	13,08	11,92	2,85	
	0,6	17,92	12,02	2,93	
	0,7	25,42	9,58	2,84	
	0,8	32,91	7,09	2,87	
	0,9	41,30	3,70	2,84	
pH = 5,60 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,000 $m = 1$	0,1	0,40	4,60	(3,45)	3,35 $\pm$ 0,03
	0,2	1,23	8,77	3,36	
	0,3	2,32	12,68	3,39	
	0,4	4,68	15,32	3,35	
	0,5	8,51	16,49	3,36	
	0,6	14,40	15,60	3,39	
	0,7	22,79	12,21	3,28	
	0,8	31,64	8,36	3,31	
	0,9	40,60	4,40	(3,26)	
pH = 6,15 $t^\circ = 25^\circ C$ A = 1,000	0,1	0,03	2,47	(4,62)	4,02 $\pm$ 0,06
	0,2	0,15	4,85	(4,37)	
	0,3	0,52	6,98	4,10	
	0,4	1,42	8,58	3,97	
	0,5	3,19	9,31	3,96	
	0,6	6,31	8,69	3,02	
	0,7	10,53	6,97	4,09	
	0,8	15,34	4,66	3,95	
	0,9	20,17	2,33	3,83	

fonction de x car le nombre des solutions limpides est d'autant plus restreint que le pH est plus élevé. On remarque d'autre part que les valeurs de pk'_m calculées d'après l'équation (31) en faisant $m = 1$ varient régulièrement dès pH = 4,20 pour les solutions qui contiennent un fort excès de *l*-leucine par rapport aux ions cuivriques. C'est pourquoi nous avons calculé les valeurs de pk'_m d'après les mesures faites sur les solutions où $x = 0,1$, en faisant $m = 2$ dans la relation (31) depuis pH = 4,20 jusqu'à pH = 8,80. Le tableau IV donne les résultats obtenus. Il est intéressant de constater que les valeurs obtenues pour pk'_m sont proportionnelles aux pH.

$m = 1$ peut se mettre sous la forme :

$$\frac{1}{k'_m} = \frac{1}{k'_1} \cdot \frac{K_2}{[H^+]} + \frac{1}{k'} \quad (38)$$

Par conséquent, si la courbe

$$pk'_m = f(\text{pH})$$

est une droite parallèle à l'axe des abscisses, le complexe CuR^{++} existe seul. Si cette courbe est une droite de pente égale à l'unité, le complexe CuR^+ existe seul, car (38) devient :

$$pk'_m = pk'_1 - \text{p}K_2 + \text{pH} \quad (39)$$

TABLEAU IV

pH	$x = 0,1$ a mol. g/1	$t^\circ = 25^\circ \text{C}$ (Cu^{++}) mol. g/1	$\mu = \sum c_i z_i^2 = 3 \text{ M}$ (CuR_m) mol. g/1	$m = 2$ $A(\text{R}^\pm) \cdot \text{M}$ mol. g/1	pk'_m
4,20	100.10 ⁻⁴	4,23.10 ⁻⁴	5,77.10 ⁻⁴	78,46.10 ⁻⁴	4,34
4,50	100 —	1,94 —	8,06 —	73,88 —	4,88
5,00	50 —	0,96 —	4,04 —	36,92 —	5,49
5,60	50 —	0,40 —	4,60 —	35,80 —	5,95
6,15	25 —	3,00.10 ⁻⁶	2,47 —	17,56 —	7,43
6,40	25 —	3,56.10 ⁻⁷	2,50 —	17,50 —	8,35
6,80	25 —	8,20.10 ⁻⁸	2,50 —	17,50 —	9,00
6,90	25 —	2,90.10 ⁻⁸	2,50 —	17,50 —	9,45
7,35	25 —	5,20.10 ⁻⁹	2,50 —	17,50 —	10,20
8,20	25 —	2,20.10 ⁻¹⁰	2,50 —	17,50 —	11,60
8,30	25 —	1,20.10 ⁻¹⁰	2,50 —	17,50 —	11,87
8,60	25 —	2,30.10 ⁻¹¹	2,50 —	17,50 —	12,63
8,80	25 —	6,00.10 ⁻¹²	2,50 —	17,50 —	13,22

3. Interprétation des résultats.

Nous venons de montrer que pour tous les mélanges ayant un excès de sulfate de cuivre par rapport à la *l*-leucine, c'est-à-dire pour $x \geq 0,5$, on a prédominance du complexe de type CuR de pH = 3,00 à pH = 6,15; au contraire, pour les mélanges où la quantité de *l*-leucine est très supérieure à celle du sulfate de cuivre, c'est-à-dire pour $x = 0,1$ et pour des pH supérieurs à 4, la présence d'un deuxième composé de type CuR_2 est probable. Mais on ne peut dire *a priori* si ces complexes sont formés avec les ions $\text{R}^\pm$ ou R^- de l'acide aminé. Cette ambiguïté peut toutefois être levée de la manière suivante :

a) *Complexe du type CuR.* — Les deux composés susceptibles de se former entre un ion cuivrique et un groupement aminoacide sont CuR^+ et CuR^{++} dont les constantes apparentes de stabilité sont respectivement

$$k'_1 = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)}{(\text{CuR}^+)} \quad (36) \quad \text{et} \quad k' = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^\pm)}{(\text{CuR}^{++})} \quad (37)$$

Si l'on admet la coexistence de ces deux complexes, la quantité (CuR_m) représente en fait la somme de leurs concentrations et la constante k'_m calculée pour

et l'ordonnée à l'origine permet de calculer pk'_1 . La courbe que l'on construit à partir des données du tableau III, montre que dans toute la zone de pH étudiée, c'est cette dernière hypothèse qui est vérifiée. Il faut donc conclure que pour tous les mélanges où il y a un excès de sulfate de cuivre par rapport à la leucine et de pH = 3 à pH = 6,15, le complexe se forme suivant la réaction :



et sa constante de stabilité est, pour une force ionique $\mu = \sum c_i z_i^2 = 3 \text{ M}$

$$pk'_1 = 7,55.$$

b) *Complexe de type CuR₂.* — Les trois composés susceptibles de se former entre un ion cuivrique et deux groupements aminoacide sont CuR_2 , CuR_2^+ , CuR_2^{++} , dont les constantes apparentes de stabilité sont respectivement :

$$k'_2 = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)^2}{(\text{CuR}_2)} \quad (40)$$

$$k'_3 = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^\pm)(\text{R}^-)}{(\text{CuR}_2^+)} \quad (41)$$

$$k'_4 = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^\pm)^2}{(\text{CuR}_2^{++})} \quad (42)$$

Un raisonnement analogue au précédent montre que si ces trois complexes coexistent, la constante k'_m calculée pour $m = 2$ peut se mettre sous la forme :

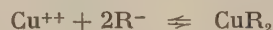
$$\frac{1}{k'_m} = \frac{1}{k'_2} \cdot \frac{K_2^2}{[H^+]^2} + \frac{1}{k'_3} \cdot \frac{K_2}{[H^+]} + \frac{1}{k'_4} \quad (43)$$

Par conséquent, si la courbe $pk'_m = f(\text{pH})$ est une droite parallèle à l'axe des abscisses, le complexe CuR_2^{++} existe seul. Si c'est une droite de pente 1, el composé CuR_2^+ est seul présent dans la solution. Si c'est une droite de pente 2, c'est le complexe non chargé qui s'est formé, l'équation (43) se réduisant à :

$$pk'_m = pk'_2 - 2pK_2 + 2\text{pH} \quad (44)$$

La courbe construite à partir des données du tableau IV, montre sans ambiguïté que cette dernière hypothèse est valable pour toute la zone de pH étudiée.

On peut donc conclure que pour tous les mélanges où la *l*-leucine est en excès par rapport au cuivre, et pour $\text{pH} \geq 4,20$, le complexe se forme suivant la réaction :



et sa constante de stabilité, pour une force ionique $\mu = 3 \text{ M}$, est telle que :

$$pk'_2 = 15,00.$$

D. — Résultats obtenus à partir des mesures spectrophotométriques.

Avant toute mesure sur les mélanges étudiés, nous nous sommes assurés que les solutions de sulfate de cuivre seul suivent la loi de BEER ⁽¹⁾ et que, aux concentrations et pour les longueurs d'onde utilisées, leur absorption n'est affectée ni par la présence du sulfate de potassium, ni par la variation du pH. Nous avons aussi calculé, à partir de mesures d'absorption effectuées sur des solutions à $\text{pH} = 3,15$, 4,50 et 5,00, les valeurs du coefficient d'extinction moléculaire ϵ_0 de l'ion cuivrique (tableau V).

Nous avons vérifié d'autre part que les mélanges de *l*-leucine et de sulfate de potassium n'absorbent pas dans la zone du spectre utilisée.

Les mesures ont été effectuées à différents pH :

1,50	}	avec $a = 100 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
2,50		
3,20		
4,50		
5,00	}	avec $a = 50 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
5,60		
6,15	}	avec $a = 25 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
6,40		
6,80		
6,90		
12,0		

1. Mesures effectuées de $\text{pH} = 1,50$ à $\text{pH} = 3,0$.

Pour toutes les solutions étudiées de $\text{pH} = 1,50$ à $\text{pH} = 3,0$, si l'on construit les courbes

$$\Delta = f(\lambda)$$

et

$$\Delta - \Delta_0 = f(x)$$

on constate qu'elles sont identiques à celles des solutions ne contenant que du sulfate de cuivre. Il ne se forme donc aucun composé absorbant entre les ions cuivriques et la *l*-leucine dans la zone des pH inférieurs à 3, ce qui confirme les résultats obtenus par les mesures électrométriques.

2. Mesures effectuées à des pH supérieurs à 6,20.

Pour les solutions dont le pH est supérieur à 6,20, il n'est plus possible d'étudier l'absorption dans tous les mélanges, car les phénomènes de précipitation viennent fausser les mesures, puisque les solutions ne sont plus limpides.

Cependant, si on construit les courbes $\Delta = f(\lambda)$ pour les mélanges $x = 0,1$ et pour différents pH, on remarque (fig. 9) qu'elles sont superposables. Le maximum d'absorption est situé à 620 $\text{m}\mu$, valeur très différente de celle (820 $\text{m}\mu$) obtenue pour le

TABLEAU V

Cuves de 1 cm			$(\text{Cu}^{++}) = 100 \cdot 10^{-4}$					
$\lambda(\text{m}\mu)$	Δ_0	ϵ_0	λ	Δ_0	ϵ_0	λ	Δ_0	ϵ_0
400	0,0000	0,00	640	0,0250	2,50	820	0,1225	12,25
500	0,0015	0,15	660	0,0390	3,90	840	0,1192	11,92
520	0,0023	0,23	680	0,0550	5,50	860	0,1150	11,50
540	0,0031	0,31	690	0,0623	6,23	880	0,1100	11,00
560	0,0044	0,44	700	0,0710	7,10	900	0,1047	10,47
580	0,0060	0,60	710	0,0760	7,60	920	0,0982	9,82
590	0,0074	0,74	720	0,0864	8,64	940	0,0915	9,15
600	0,0090	0,90	740	0,1025	10,25	960	0,0852	8,52
610	0,0117	1,17	760	0,1125	11,25	980	0,0795	7,95
620	0,0155	1,55	780	0,1190	11,90	1 000	0,0743	7,43
630	0,0200	2,00	800	0,1230	12,30	1 040	0,0656	6,56
						1 080	0,0590	5,90

sulfate de cuivre. Étant donné que les mesures électrométriques nous ont montré que les ions cuivriques non complexés sont en quantité négligeable dans cette zone de pH, on peut en conclure qu'il n'existe

3. Mesures effectuées à des pH compris entre 3 et 6,20.

Les courbes d'absorption, construites à partir des valeurs de la densité optique des solutions montrent

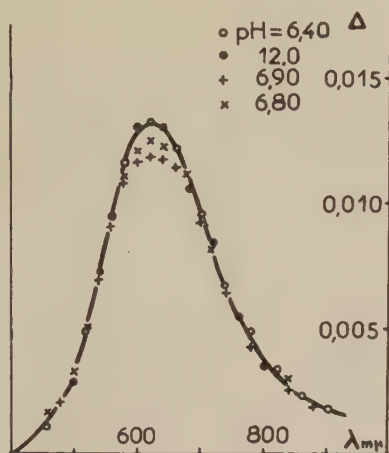


Fig. 9.

dans ces mélanges qu'un seul composé défini, vraisemblablement CuR_2 , qui suit la loi de BEER et dont la concentration est égale à celle du cuivre total, c'est-à-dire $2,5 \cdot 10^{-4}$ M. Il est donc possible de calculer, pour chaque longueur d'onde, la valeur ϵ_2 du coefficient d'extinction moléculaire de ce complexe (tableau VI). On remarque que pour 820 mμ

$$\epsilon_0 = \epsilon_2.$$

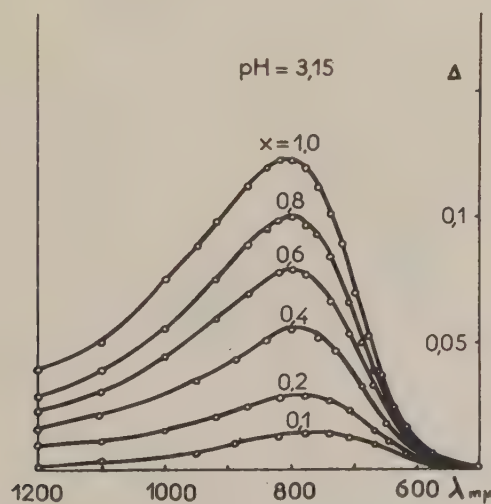


Fig. 10.

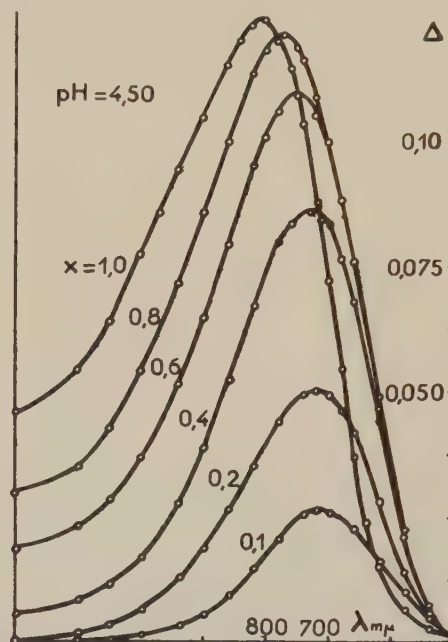


Fig. 11.

(fig. 10, 11 et 12) que pour un pH donné, le maximum de la densité optique est obtenu pour des longueurs d'onde de plus en plus faibles lorsque x

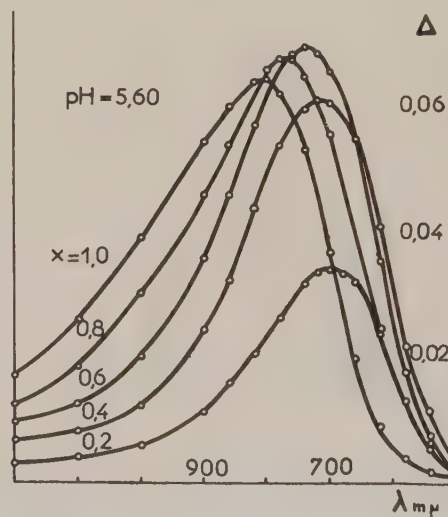


Fig. 12.

Autrement dit, pour cette longueur d'onde le terme $(\epsilon_2 - \epsilon_0)$ (CuR_2) de la relation 35 est négligeable.

décroît de 0,9 à 0,1; d'autre part, pour un mélange déterminé, $x = 0,5$ par exemple, ce maximum se

TABEAU VI

$\lambda(\text{m}\mu)$	Valeurs de $\Delta \cdot 10^4$			$a = 25 \cdot 10^{-4} \text{ M}$			Cuves de 1 cm d'épaisseur	
	pH = 6,40	pH = 6,80	pH = 6,90	pH = 12	Δ moyen	ε_2 moyen		
400	8	15	14,5	8	0	0,0		
440	—	—	—	—	7	2,80		
460	10,5	17	17	—	13	5,20		
480	18	23	21	—	21	8,40		
500	29	33	31	65	32	12,80		
520	47	50	49	80	50	20,00		
540	70	71	70	95	73	29,20		
560	95	93	90	110	96	38,40		
580	115	110	107	120	118	47,20		
600	130	120	116	130	128	51,20		
620	133	124	118	130	132	52,80		
640	130	122	116	130	128	51,20		
660	121	120	114	125	121	48,40		
680	108	111	105	105	111	44,40		
700	95	98	92	95	95	38,00		
720	80	84	76	85	79	31,60		
740	68	72	64	70	65	26,00		
760	58	60	51	55	55	22,00		
780	50	49	43	45	46	18,40		
800	43	41	35	35	39	15,60		
820	36	36	31	25	33	13,20		
840	31	32	26	—	28	11,20		
860	25	26	23	20	24	9,60		
880	22	22	20	—	21	8,40		
900	20	18	17,5	10	19	7,60		

déplace également vers les petites longueurs d'onde lorsque le pH croît.

De plus, si on trace, pour chaque longueur d'onde, les courbes $\Delta - \Delta_0 = f(x)$ on remarque qu'elles présentent toutes entre pH = 3,15 et 4,50, un maximum pour $x = 0,5$ (fig. 13). Ceci indique, d'après la relation (30), la présence d'un complexe de type CuR.

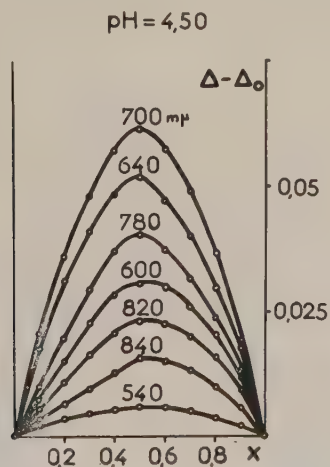


Fig. 13.

Au contraire, à partir de pH = 5,00, la position du maximum varie avec la longueur d'onde et se déplace de $x = 0,5$ à $x = 0,33$ environ lorsque la longueur d'onde passe de 680 à 500 mμ (fig. 14). Ceci dénote la coexistence de plusieurs complexes. Étant donné que cette zone de pH est comprise

entre deux régions où les complexes CuR et CuR₂ prédominent respectivement, il semble normal de conclure à la coexistence des composés CuR et CuR₂ entre pH = 5 et pH = 6,20.

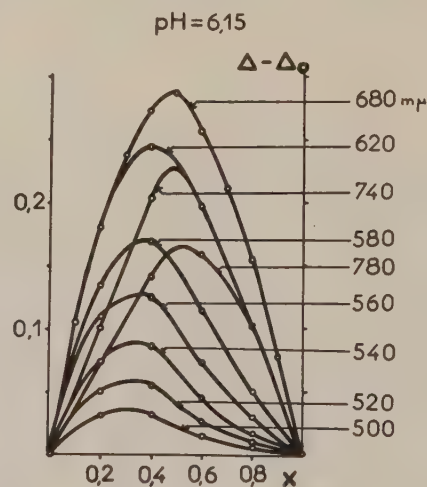


Fig. 14.

4. Interprétation des résultats.

Les résultats précédents nous ont montré la présence de deux complexes des types CuR et CuR₂.

Par conséquent la relation, (35) se réduit à :

$$\Delta - \Delta_0 = (\varepsilon_1 - \varepsilon_0) (\text{CuR}) + (\varepsilon_2 - \varepsilon_0) (\text{CuR}_2) \quad (45)$$

Or nous avons remarqué que pour une longueur d'onde de 820 mμ, $\epsilon_2 = \epsilon_0$. A cette condition :

$$\Delta - \Delta_0 = (\epsilon_1 - \epsilon_0) (\text{CuR})$$

et la relation (31) donne, en posant :

$$A = 1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[\text{H}^+]}$$

$$pk'_m + \log(\epsilon_1 - \epsilon_0) = \log(\Delta - \Delta_0) + \log A - \log(\text{Cu}^{++}) - [\log a(1-x) - (\text{CuR})] \quad (46)$$

tion (45) est faible, et il devient tout à fait négligeable si on place à une longueur d'onde de 560 mμ pour laquelle $\epsilon_1 - \epsilon_0 = 0$.

Dans ces conditions, $\Delta - \Delta_0 = (\epsilon_2 - \epsilon_0) (\text{CuR}_2)$ et la relation (31) donne, pour $m = 2$:

$$pk'_m + \log(\epsilon_2 - \epsilon_0) = \log(\Delta - \Delta_0) + 2 \log A - \log(\text{Cu}^{++}) - 2 \log[a(1-x) - 2(\text{CuR}_2)] \quad (47)$$

Tout le second membre de cette équation est connu, soit par électrométrie, soit par spectropho-

TABEAU VII

pH	$\Delta - \Delta_0$	$\log (\text{Cu}^{++})$	$\log A$	$\log [a(1-x) - (\text{CuR})]$	$pk_m + \log(\epsilon_1 - \epsilon_0)$
3,15	35.10 ⁻⁴	— 2,32476	0,05729	— 2,32477	2,25
4,50	230 —	— 2,54171	0,00303	— 2,54166	3,45
5,00	170 —	— 2,88342	0,00087	— 2,88339	4,00
5,60	175 —	— 3,06985	0,00000	— 3,06985	4,38
6,15	100 —	— 3,49631	0,00000	— 3,49631	5,00

Tout le second membre est connu, soit par électrométrie, soit par spectrophotométrie; pour un pH donné, pour chaque longueur d'onde et chaque valeur de x , la quantité $pk'_m + \log (\epsilon_1 - \epsilon_0)$ peut donc être calculée. Le résultat de ce calcul fait pour $x = 0,5$ et $\lambda = 820 \text{ m}\mu$ est donné dans le tableau VII.

La courbe

$$pk'_m + \log(\epsilon_1 - \epsilon_0) = f(\text{pH})$$

est une droite de pente égale à 1. D'après le raisonnement fait précédemment pour l'étude électrométrique, cela signifie que le complexe est formé entre un ion cuivrique et un ion négatif de la *l*-leucine.

On ne peut toutefois pas atteindre la constante d'équilibre k'_1 du complexe CuR^+ car la valeur de ϵ_1 n'est pas connue. Par contre, si l'on admet la valeur de pk'_1 donnée par l'électrométrie, il est possible de calculer le coefficient d'extinction moléculaire ϵ_1 du complexe à partir de l'ordonnée à l'origine de la droite. On trouve :

$$\epsilon_1 = 24,85 \quad \text{pour} \quad \lambda = 820 \text{ m}\mu.$$

Si nous considérons maintenant les mélanges $x = 0,1$ dans lesquels le complexe CuR_2 prédomine puisqu'il y a un gros excès de *l*-leucine par rapport au sel de cuivre, le terme $(\epsilon_1 - \epsilon_0) (\text{CuR})$ de la rela-

tométrie, et les valeurs de $pk'_m + \log (\epsilon_2 - \epsilon_0)$ sont données par le tableau VIII pour les mélanges où $x = 0,1$ et $\lambda = 560 \text{ m}\mu$.

La courbe des variations de cette quantité en fonction du pH est une droite de pente 2, ce qui signifie, d'après le raisonnement fait précédemment pour l'électrométrie, que le complexe est formé entre un atome de cuivre et deux ions négatifs de la *l*-leucine.

En utilisant les valeurs de ϵ_0 et de ϵ_2 pour cette longueur d'onde, et l'ordonnée à l'origine de la droite, on obtient :

$$pk'_2 = 14,97 \quad \text{pour une force ionique } \mu = 3M$$

Cette valeur concorde très bien avec celle obtenue à partir des mesures électrométriques.

De plus, on peut connaître, pour un mélange déterminé, les variations des concentrations des ions cuivriques et des complexes CuR^+ et CuR_2 en fonction du pH. En effet, les mesures électrométriques donnent (Cu^{++}) et les mesures spectrophotométriques effectuées pour $\lambda = 820 \text{ m}\mu$ pour laquelle ϵ_2 et ϵ_0 sont égaux, permettent de calculer :

$$(\text{CuR}^+) = \frac{\Delta - \Delta_0}{\epsilon_1 - \epsilon_0}$$

tandis que (CuR_2) sera déterminé par différence.

TABEAU VIII

pH	$\Delta - \Delta_0$	$\log (\text{Cu}^{++})$	$x = 0,1$	$\lambda = 560 \text{ m}\mu$	$pk'_m + \log (\epsilon_2 - \epsilon_0)$
			$\log A$	$\log [a(1-x) - 2(\text{CuR}_2)]$	
4,50	70.10 ⁻⁴	— 3,71186	0,00303	— 2,13147	5,82
5,00	60 —	— 4,01967	0,00087	— 2,43274	6,67
6,15	75 —	— 5,53087	0,00000	— 2,75548	8,92
6,40	95 —	— 6,43774	0,00020	— 2,75696	9,92

TABLEAU IX

pH	ax. 10^4 M	$(\Delta - \Delta_0) \cdot 10^4$	(CuR) %	(Cu ⁺⁺) %	(CuR ₂) %
3,15	30	44	9,2	92,5	0
3,75	30	—	—	82,2	—
4,18	30	—	—	59,7	—
5,00	15	140	58,6	34,0	7,4
5,60	15	125	52,3	15,4	32,30
6,15	7,5	40	33,5	6,9	59,6

Le tableau IX donne les résultats obtenus pour $x = 0,3$; ils ont été reportés sur les courbes de la figure 15.

complexe CuR₂ croît jusqu'à atteindre 100 % du cuivre initial pour des pH élevés.

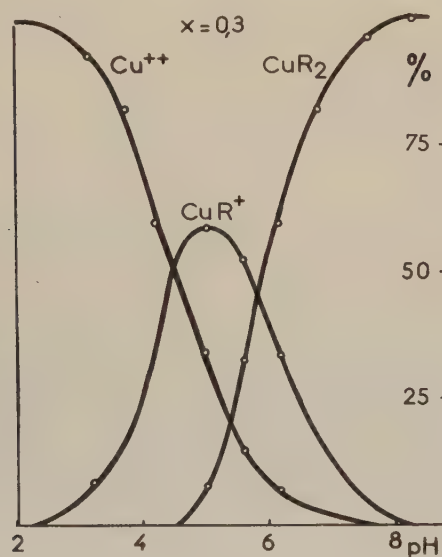


Fig. 15.

On voit que la concentration du complexe CuR⁺ croît d'abord avec le pH, passe par un maximum vers pH = 5,00, puis diminue tandis que celle du

E. — Conclusions.

Les mesures électrométriques et spectrophotométriques effectuées sur des mélanges sulfate de cuivre *l*-leucine donnent des résultats qui concordent aussi bien entre eux qu'avec ceux donnés par la méthode des mesures combinées.

Deux complexes CuR⁺ et CuR₂, formés entre le cuivre et l'ion négatif de l'acide aminé ont été mis en évidence, et leurs constantes apparentes de stabilité sont respectivement, pour une force ionique μ de 3 M :

$$\begin{aligned} pk_1' &= 7,55 && \text{(électrométrie)} \\ pk_2' &= 15,00 && \text{(électrométrie)} \\ pk_2' &= 14,97 && \text{(spectrophométrie)} \end{aligned}$$

Pour obtenir ces résultats, nous avons été contraints de nous placer dans des conditions telles que l'un des composés prédomine largement par rapport à l'autre ce qui limite l'emploi de cette méthode qui, par ailleurs, ne permet pas de préciser la nature des précipités formés. Nous poursuivrons l'étude des complexes du cuivre et de la *l*-leucine à l'aide de la conductimétrie et de la polarographie.

CHAPITRE III

III. — L.-Leucine. Méthodes conductrimétrique et polarographique.

A. — Conductimétrie.

Nous avons utilisé cette méthode sur un plan uniquement qualitatif, soit par titrage conductimétrique de mélanges *L*-leucine-sulfate de cuivre par la potasse, soit par titrage conductimétrique d'une solution de *L*-leucine par le sulfate de cuivre dans des zones de pH différentes, et les résultats concordent parfaitement.

1. Appareillage et produits.

Pour atténuer au maximum les phénomènes de polarisation aux électrodes, nous avons utilisé un courant alternatif de faible intensité donné par un oscillateur à lampes. Malgré cela, la cellule se comporte comme une résistance placée en série avec une capacité provenant du condensateur plan formé au voisinage des électrodes par l'accumulation des ions dus au passage du courant. Cette capacité est proportionnelle à la surface des électrodes et à la constante diélectrique de la couche de polarisation et inversement proportionnelle à l'épaisseur de cette dernière.

La précision de la mesure sera d'autant plus grande que l'impédance de la cellule sera plus voisine de sa résistance. Pour cela, nous avons utilisé un courant alternatif de fréquence relativement élevée (1 000 périodes par seconde) et des électrodes de grande surface en platine platiné; l'effet catalytique de ce dernier abaisse la concentration des ions dans la couche de polarisation, donc réduit l'épaisseur de cette couche tout en augmentant sa constante diélectrique.

L'oscillateur à lampes utilisé dans le montage expérimental a été construit au laboratoire, et donne un courant parfaitement sinusoïdal dont le taux d'harmoniques est inférieur à 0,1 %.

Nous avons employé pour détecter le minimum, soit des écouteurs téléphoniques de fréquence fondamentale voisine de 1 000 périodes, soit un microampèremètre, le courant venant de l'amplificateur à deux étages étant alors redressé par un dispositif à oxyde cuivreux, soit un voltmètre à lampes.

Le pont LEEDS et NORTHRUP est du type enroulé sur tambour, de 30 mètres de longueur. La boîte de résistance AOIP à 6 décades est constituée par des résistances étalonnées à 0,01 % près et permet de couvrir toute la gamme entre 0,1 et 100 000 ohms.

Le pont et la boîte sont aselfiques et sans capacité.

La cellule de mesure est en verre Pyrex peu soluble. Elle comporte des électrodes fixées de façon rigide l'une par rapport à l'autre et dont la position reste invariable par rapport aux parois du vase; les deux bras portant les électrodes sont aussi éloignés que possible l'un de l'autre afin d'éviter les courants de fuite.

Les mesures sont faites à température constante à $25^{\circ}\text{C} \pm 0,05$, en thermostat à eau. En effet, si le thermostat à air ou à huile est nécessaire lorsque la résistance de la cellule est très grande, il n'en est pas de même ici où elle ne dépasse pas 800 ohms.

Les produits utilisés ont été purifiés avec le plus grand soin par recristallisations successives dans l'eau de conductibilité. Cette eau a été bidistillée dans un appareil en quartz. Sa conductibilité est de l'ordre de $10^{-8} \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Toutes les mesures sont faites au voisinage du milieu du pont où le minimum s'observe mieux et

où l'erreur relative sur la lecture est la plus faible.

On a admis que pour des solutions diluées et pour un faible intervalle de concentrations, la conductibilité R de la solution variait linéairement avec la concentration. D'où la correction de dilution :

$$\frac{1}{R} \text{ corrigé} = \frac{1}{R} \text{ expérimental} \cdot \frac{N+n}{N}$$

N étant le volume initial de la solution et n celui du réactif ajouté.

On a en outre tenu compte de la présence des ions H^+ et OH^- .

2. Résultats expérimentaux.

a) Titrage des mélanges de *l*-leucine et de sulfate de cuivre par la potasse.

Nous avons préparé, à partir de solutions 0,02 M en sulfate de cuivre et en aminoacide, divers mélanges tels que le rapport q de la concentration initiale de la *l*-leucine à celle du cuivre soit successivement 0,5, 1 ou 2.

Chacun de ces mélanges est amené à un pH acide par addition de quelques gouttes d'acide sulfurique, puis titré par la potasse. Après chaque addition de base, la conductibilité et le pH de la solution sont mesurés.

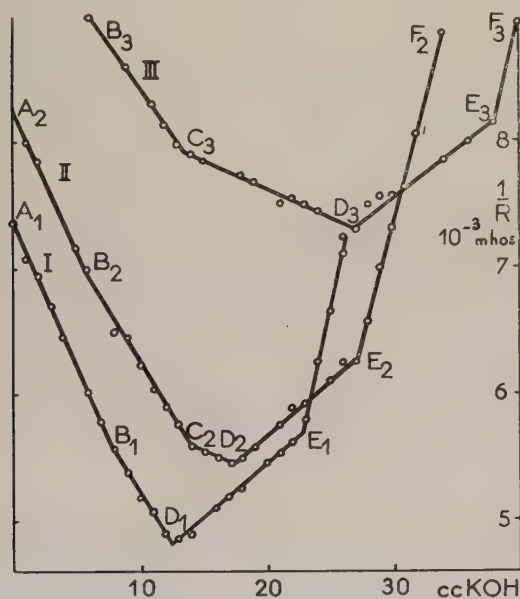


Fig. 16.

Les courbes de la figure 16 donnent les variations de la conductibilité de ces mélanges en fonction de la quantité de potasse ajoutée.

La courbe I ($q = 0,5$) montre que la conductibilité de la solution décroît rapidement avec la disparition des ions H^+ et la transformation de l'ion R^+

de l'acide en ion R^- depuis $pH = 2,10$ (point A_1) jusqu'à $pH = 3,30$ (point D_1) mais qu'à partir de $pH = 2,50$ (point B_1), un composé apparaît, puisque la diminution de la conductibilité est moins rapide qu'au début.

Puis, la conductibilité augmente jusqu'à $pH = 9,80$ (point E_1) en même temps que l'on observe l'apparition d'un précipité qui disparaît au début par agitation de la solution, mais qui persiste à partir de $pH = 5,40$.

Enfin, au delà de $pH = 9,80$, les ions hydroxydes en excès font croître encore plus rapidement la conductibilité.

La courbe II ($q = 1$) indique que la conductibilité de la solution décroît de $pH = 2,00$ (point A_2) jusqu'à $pH = 3,20$ (point D_2); mais cette diminution n'est pas uniforme : la portion de droite A_2B_2 obtenue de $pH = 2,00$ à $pH = 2,10$ a la même pente que la fraction A_1B_1 de la courbe I. De même la portion B_2C_2 qui va de $pH = 2,10$ à $pH = 2,65$ a son coefficient angulaire identique à celui de B_1D_1 .

Par contre, la conductibilité diminue ensuite moins rapidement entre C_2 et D_2 ($pH = 3,20$) tandis qu'on observe la formation d'un précipité qui disparaît par agitation, et que la solution prend une coloration bleue.

Ensuite, la conductibilité croît, tandis que le précipité persiste à partir de $pH = 4,95$. Une nouvelle cassure vers $pH = 9$ signale l'apparition des ions hydroxydes en excès (portion E_2F_2).

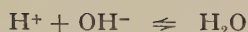
La courbe III ($q = 2$) est analogue à la courbe II. La conductibilité décroît très vite d'abord, de $pH = 1,95$ à $pH = 2,00$ (droite A_3B_3 de même pente que A_1B_1 et A_2B_2) puis moins rapidement de $pH = 2,00$ à $pH = 2,30$ (droite B_3C_3 de pente identique à B_1C_1 et B_2C_2) et plus lentement encore jusqu'à $pH = 3,35$ tandis que la solution vire au bleu (droite C_3D_3 de pente identique à C_2D_2) la courbe se relève ensuite, alors que la précipitation est visible dès $pH = 4,45$ (droite D_3E_3 , de même coefficient angulaire que D_2E_2 et D_1E_1). Au delà de $pH = 9,90$ (point E_3) apparaissent les ions hydroxydes en excès.

La figure 17 représente ces mêmes courbes après une translation qui fait coïncider en B les points B_1, B_2 et B_3 . L'identité des pentes des différentes portions AB, BC, CD, DE, EF des trois courbes apparaît ainsi plus clairement.

Étant donné que nous nous sommes placés dans les mêmes conditions expérimentales, on peut vraisemblablement admettre que si on trouve, dans les trois courbes, ces portions de droite de même coefficient angulaire, elles indiqueront la présence du même processus ionique dans les solutions :

Les portions AB des courbes correspondent à la disparition des ions H^+ et à la transformation des ions R^+ de la *l*-leucine en ions dipolaires suivant les

réactions :



et



Le segment de droite $BD_1C_2C_3$ de la figure 17

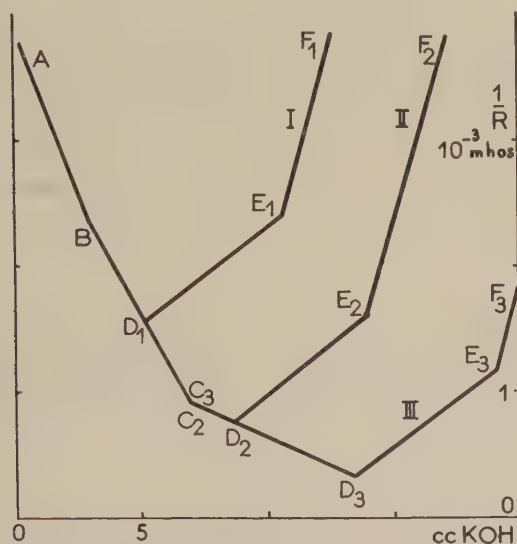


Fig. 17.

indique la formation d'un composé qui apparaît dans les trois mélanges à des pH d'autant plus faibles que le rapport q est plus grand (pH = 2,50 pour $q = 0,5$, pH = 2,10 pour $q = 1$ et pH = 2,00 pour $q = 2$).

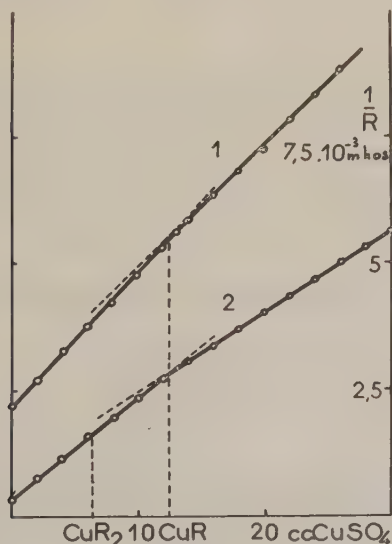


Fig. 18.

Le segment $C_2C_3D_2D_3$ indique qu'un deuxième composé prend naissance dans les solutions pour lesquelles q est supérieur à 0,5 : à pH = 2,65 quand $q = 1$ et à pH = 2,30 quand $q = 2$. L'absence de

cette portion de droite dans la courbe I où la concentration relative en *l*-leucine est la plus faible semble indiquer que le deuxième composé se forme avec un nombre de groupements aminoacides plus grand que le premier.

Nous verrons ultérieurement comment on peut préciser la formule de ces deux composés par un autre titrage conductimétrique.

Les portions de droite DE correspondent toutes à des précipitations, mais il est difficile de préciser la nature du ou des précipités formés d'après les courbes.

Enfin, les portions de droite EF correspondent à l'apparition des ions hydroxyles en excès qui se manifestent lorsque tout le cuivre des solutions est précipité ou complexé.

b) *Titration conductimétrique de la l-leucine par le sulfate de cuivre.*

Afin de déterminer la formule brute des deux composés mis en évidence par les courbes précédentes, nous avons effectué le titrage d'une solution de *l*-leucine 0,0033 M par le sulfate de cuivre 0,02 M en opérant dans des zones de pH différentes. Le pH de la solution varie en effet plus ou moins tout le long de la courbe de titrage :

de pH = 2,70 à pH = 2,10 pour la courbe 1
de pH = 4,05 à pH = 3,30 pour la courbe 2
de pH = 4,70 à pH = 3,50 pour la courbe 3
de pH = 11,10 à pH = 5,90 pour la courbe 4

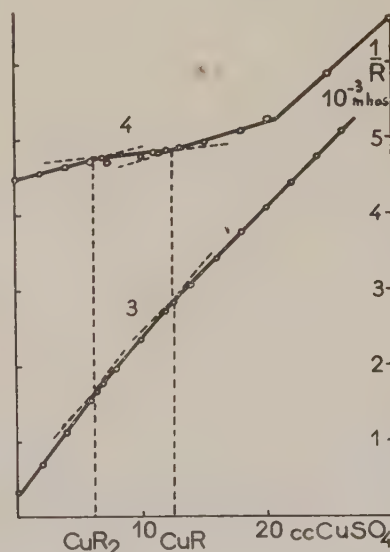


Fig. 19.

Les courbes correspondant à la variation de la conductibilité en fonction du nombre de centimètres cubes de sulfate de cuivre ajoutés, sont représentées par les figures 18 et 19.

On remarque que la conductibilité des solutions croît au cours des titrages d'une manière non uniforme et que les courbes accusent un, deux ou trois changements de pente.

L'un d'eux apparaît pour les quatre courbes lorsqu'on a versé 12,5 cm³ de sulfate de cuivre, c'est-à-dire pour une concentration moléculaire de cuivre égale à celle de la *l*-leucine. Il met en évidence le composé CuR.

Un autre changement de pente qui n'apparaît que dans les courbes 2, 3 et 4 pour lesquelles le pH est plus élevé, correspond à 6,25 cm³ de sulfate de cuivre c'est-à-dire une concentration moléculaire en cuivre moitié de celle de la *l*-leucine. Il met en lumière le composé CuR₂.

La troisième cassure, qui apparaît uniquement sur la courbe 4, est liée à la précipitation qui se produit dans cette solution.

3. Discussion des résultats.

Les deux formes de titrages utilisées concordent très bien puisque la première fait apparaître deux composés dont la deuxième précise les formules brutes CuR et CuR₂.

Ces résultats recourent ceux obtenus précédemment (*) par la méthode des mesures combinées et celle des variations continues.

La méthode conductimétrique est un bon instrument de travail quand il s'agit de faire une étude qualitative. Malheureusement, elle fait intervenir tous les ions présents dans la solution : c'est un grave inconvénient qui empêche pratiquement d'opérer à force ionique élevée, car les variations relatives de conductibilité apportées par les réactions qui interviennent sont souvent minimes. De plus, la grande mobilité des ions H⁺ et OH⁻ peut masquer les phénomènes à étudier et les corrections que l'on peut y apporter sont souvent illusoires.

B. — Polarographie.

1. Introduction.

La méthode polarographique peut être utilisée pour l'étude des ions complexes car le potentiel de demi-palier d'un ion métallique simple est généralement déplacé vers les valeurs plus négatives lorsqu'il y a formation de complexe. La variation de ce déplacement en fonction de la concentration de l'agent complexant permet souvent de déterminer la formule de dissociation du complexe.

Si un complexe se décharge de façon réversible

à l'électrode à goutte, en présence d'un excès d'électrolyte de base, l'intensité i_d du courant de diffusion limite est donnée par l'équation d'ILKOVIC (12) :

$$i_d = 605 n D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C = knC \quad (48)$$

où D est le coefficient de diffusion de la substance en cm²sec⁻¹, m la vitesse du flux de mercure en milligrammes par seconde, t le temps de formation d'une goutte en secondes, n le nombre d'électrons intervenant dans la décharge et C la concentration du complexe.

L'équation générale de la vague polarographique est de forme analogue à celle d'un ion simple :

$$E = E_{1/2} - \frac{MRT}{an\mathcal{F}} \log \frac{i}{i_d - i} \quad (49)$$

E représente le potentiel appliqué qui correspond à l'intensité i du courant, $E_{1/2}$ le potentiel de demi-palier de la vague, c'est-à-dire le potentiel de l'électrode lorsque :

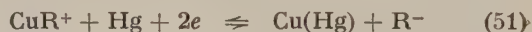
$$i = \frac{i_d}{2} \quad (50)$$

α est le coefficient de réversibilité qui doit être peu différent de 1.

La réduction d'un complexe à l'électrode à goutte de mercure peut se faire de différentes façons, ainsi que l'ont montré KOLTHOFF et LINGANE (13).

a) Réduction d'un complexe à l'état d'amalgame métallique.

Si nous supposons que dans une solution contenant un excès d'ions complexants R⁻ par rapport au complexe CuR⁺, par exemple, ce dernier est réduit de manière rapide et réversible à l'électrode à goutte de mercure suivant la réaction :



Le potentiel de demi-palier correspondant est donné par :

$$E_{1/2} = E_a^0 + \frac{MRT}{2\mathcal{F}} \log \frac{a_{\text{Hg}} \cdot k_a \cdot K \cdot f_{\text{CuR}^+}}{f_a \cdot k_{\text{CuR}^+}} - \frac{MRT}{2\mathcal{F}} \log(\text{R}^-) f_{\text{R}^-} \quad (52)$$

où E_a^0 est le potentiel normal de l'amalgame formé, f_a , f_{CuR^+} , et f_{R^-} les coefficients d'activité de l'amalgame, du complexe, et des ions R⁻, a_{Hg} l'activité du mercure dans l'amalgame, k_a et k_{CuR^+} les constantes explicites par l'équation d'ILKOVIC et relatives à l'amalgame et au complexe, (R⁻) la concentration des ions complexants et K la constante de stabilité du complexe.

(*) Voir *Journal de Chimie Physique*.

En comparant l'équation (52) avec celle exprimant le potentiel de demi-palier correspondant à la décharge réversible du cuivre :

$$E_{1/2} = E_a^0 + \frac{MRT}{2\mathcal{F}} \log \frac{a_{Hg} \cdot k_a \cdot f_{Cu^{++}}}{f_a \cdot k_{Cu^{++}}} \quad (53)$$

On voit qu'en première approximation, l'introduction d'ions complexants déplace simplement la vague polarographique du cuivre; pour un agent complexant donné, ce déplacement est fonction de l'activité des ions complexants.

Dans le cas présent :

$$\Delta E_{1/2} = E_{1/2} - E'_{1/2} \simeq \frac{MRT}{2\mathcal{F}} \log K - \frac{MRT}{2\mathcal{F}} \log [R^-]$$

b) *Réduction d'un complexe d'un état d'oxydation à un autre.*

Si nous supposons que le complexe CuR^+ est réduit à l'électrode à goutte suivant :



le potentiel de demi-palier sera donné par l'expression :

$$E_{1/2} = E^0 - \frac{MRT}{\mathcal{F}} \log \frac{k_{CuR^+}}{k_{CuR}} \quad (55)$$

où E^0 représente le potentiel normal de la réaction (54) et k_{CuR^+} et k_{CuR} les constantes de l'équation d'Ilkovic relatives au complexe et à son produit de réduction. Dans ce cas, le potentiel de demi-palier est indépendant de la concentration en agent complexant.

c) *Réduction d'un complexe à un autre de formule différente.*

Si nous supposons que le complexe CuR_2 est réduit à l'électrode à goutte suivant la réaction :



le calcul du potentiel de demi-palier donne :

$$E_{1/2} = E^0 - \frac{MRT}{\mathcal{F}} \log \frac{k_{CuR_2}}{k_{CuR}} - \frac{MRT}{\mathcal{F}} \log (R^-) \quad (57)$$

Le potentiel de demi-palier varie avec la concentration en agent complexant.

Les considérations précédentes supposent que la dissociation du complexe est suffisamment rapide pour que les ions du métal, de l'agent complexant et du complexe soient toujours en équilibre au voisinage de l'électrode.

Mais si le complexe n'a pas le temps de se dissocier au voisinage de l'électrode, il n'y a plus équilibre. Le métal et le complexe se comportent alors comme deux substances indépendantes. On observe alors

l'apparition d'une deuxième vague, tandis que la première diminue (¹⁴). La hauteur i_1 de la première vague est proportionnelle à la concentration des ions métalliques, et celle i_2 de la deuxième à la concentration du complexe. Pour une solution déterminée, i_1/i_2 est constant quel que soit le flux du mercure.

Si le complexe se dissocie trop lentement pour être en équilibre avec les ions du métal et de l'agent complexant, et cependant trop rapidement pour ne pas libérer une partie des ions métalliques, les courbes ont même allure, mais le rapport i_1/i_2 varie en fonction du temps de chute de la goutte. L'intensité du courant du premier palier peut être considérée comme la somme des courants i' et i'' provenant de la réduction des ions métalliques venant de la solution et de ceux venant de la dissociation du complexe.

Si on admet cependant que la vitesse de diffusion du complexe est grande par rapport à sa vitesse de dissociation, sa concentration est la même au voisinage de l'électrode et au cœur de la solution. La « vague cinétique » i'' est donc proportionnelle à la concentration du complexe (¹⁵) mais pratiquement on ne peut mesurer que la somme $i_1 = i' + i''$.

2. Appareillage.

Nous avons utilisé le polarographe « RADIOMETER » type PO 3 à enregistrement automatique. Le courant condensateur provenant de la quantité d'électricité transportée pendant la charge des gouttes de mercure peut être éliminé par un dispositif assurant une compensation proportionnelle à la tension appliquée.

Le galvanomètre peut être amorti de manière à n'indiquer que la valeur moyenne du courant d'électrolyse sous forme d'une courbe à petite oscillations. On peut faire varier sa sensibilité S de manière discontinue de 1 à 10 000.

Les maxima des courbes ont été éliminés par addition de rouge de méthyle, et l'oxygène dissous a été enlevé par barbottage de 20 à 30 mn d'azote spécial R purifié sur colonne d'hydrosulfite.

Une électrode à calomel de grande surface à chlorure de potassium saturé a été utilisée comme électrode de référence impolarisable. Les valeurs des potentiels de demi-palier seront donc donnés par rapport à elle ($E_c = 0,2458$ volt à 25° C).

Les pH des solutions sont mesurés et ajustés à l'aide d'un pH mètre « RADIOMETER » type 22 dont la sensibilité est de 0,05 unité pH.

3. Résultats expérimentaux.

Une étude préalable sur les solutions de base :

— sulfate de potassium 0,5 M.

— *l*-leucine dans le sulfate de potassium 0,5 M.

a permis de préciser qu'elles ne présentent pas de vague entre 0 et $-1,5$ v. quel que soit le pH.

— les solutions de sulfate de cuivre dans le sulfate de potassium présentent une vague dont le potentiel de demi-palier reste fixé quel que soit le pH à $-0,036$ volt. Le coefficient de réversibilité α est de l'ordre de 0,75. La constante $K_{\text{Cu}^{++}}$ de l'équation (48) a été trouvée égale à :

$$k_{\text{Cu}^{++}} = (3,15 \pm 0,06) \cdot 10^{-3} \quad (58)$$

a) Etude à pH constant.

Cette étude a été faite d'abord dans le domaine d'existence du complexe CuR^+ , c'est-à-dire à des pH de l'ordre de 5.

Etude avec des concentrations en cuivre variables. — Nous avons préparé des solutions de deux types contenant respectivement :

- | | |
|----|---|
| I | x cc de CuSO_4 0,01 M dans K_2SO_4 0,5 M
$(120 - x)$ cc de K_2SO_4 0,5 M |
| II | x cc de CuSO_4 0,01 M dans K_2SO_4 0,5 M
$(60 - x)$ cc de <i>l</i> -leucine 0,01 M dans K_2SO_4 0,5 M
60 cc de K_2SO_4 0,5 M |

En faisant varier x de 0 à 60, nous avons obtenu des séries de mélanges à concentration variable en cuivre, et nous avons enregistré leurs courbes polarographiques.

La figure 20 représente, à titre d'exemple, le polarogramme obtenu à $\text{pH} = 4,95$ avec les solutions I

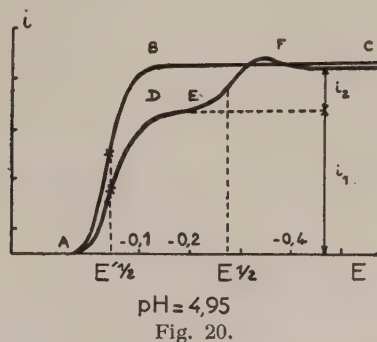


Fig. 20.

et II pour $x = 30$, c'est-à-dire pour une concentration en cuivre de $25 \cdot 10^{-4}$ M.

La vague ABC correspond à la solution I qui ne contient pas de *l*-leucine. L'ion cuivre se décharge en une seule vague mettant en jeu 2 électrons. Par contre, le polarogramme obtenu avec la solution II dans lesquelles les ions cuivriques sont en présence de *l*-leucine, montre deux vagues ADE et EFC. Ces deux vagues, que nous avons observées pour toutes les valeurs de x avec les solutions II, contenant le cuivre et l'acide aminé, ont les caractéristiques suivantes :

Le potentiel de demi-palier $E^{1/2}$ de la première ADE se confond sensiblement avec celui de l'ion cuivrique seul, c'est-à-dire $-0,04$ volt; celui de la seconde vague DEF est constant, et plus électro-négatif :

$$E^{1/2} = -0,275 \text{ volt}$$

Cette vague, qui n'existe pas lorsqu'il n'y a pas de *l*-leucine dans la solution, paraît donc produite par la réduction du complexe à un autre état d'oxydation. L'étude de la droite

$$E = f\left(\log \frac{i}{i_d - i}\right)$$

montre que cette décharge est réversible et met en jeu un seul électron. Elle semble donc correspondre à la réaction (54).

De plus, si on calcule, d'après la constante $k_{\text{Cu}^{++}}$ déterminée précédemment, (équation (58)), la constante k_{CuR^+} , on obtient :

$$k_{\text{CuR}^+} = (2,95 \pm 0,05) \cdot 10^{-3}.$$

En utilisant cette valeur, on constate que le courant de diffusion i_2 est bien proportionnel à la concentration du complexe déterminée électrométriquement dans les mêmes conditions expérimentales.

La deuxième vague du polarogramme correspond donc bien à la décharge du complexe CuR^+ avec mise en jeu d'un électron.

Par contre, la première vague est plus difficile à interpréter, car sa hauteur n'est proportionnelle ni à celle du cuivre total, ni à celle du complexe formé.

Cependant, si on calcule, à partir de la valeur de $k_{\text{Cu}^{++}}$, la quantité k'_{CuR^+} telle que :

$$k'_{\text{CuR}^+} = \frac{i_1 - 2k_{\text{Cu}}(\text{Cu}^{++})}{(\text{CuR}^+)} \quad (59)$$

on trouve une valeur constante, ce qui montre que :

$$i_1 = 2k_{\text{Cu}}(\text{Cu}^{++}) + k'_{\text{CuR}^+}(\text{CuR}^+) \quad (60)$$

avec :

$$k'_{\text{CuR}^+} = (2,90 \pm 0,3) \cdot 10^{-3} \quad (61)$$

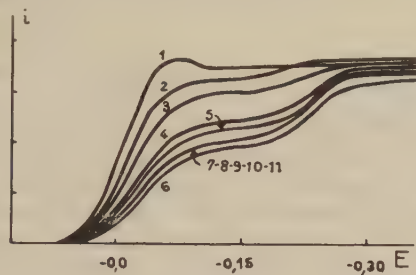
Les relations (59) et (61) montrent que cette première vague correspond à la décharge des ions cuivriques qui viennent en partie de la solution et en partie de la dissociation incomplète du complexe. Il y a superposition d'une vague cinétique à la vague provenant de la décharge des ions cuivriques non complexés.

La présence d'une vague cinétique venant du complexe CuR^+ indique que ce dernier se dissocie trop lentement pour être en équilibre avec les ions Cu^{++} du métal et R^- de la *l*-leucine, mais assez rapidement cependant pour libérer une partie des ions métalliques.

Etude avec des concentrations en cuivre constantes.
— Chaque solution contient une quantité totale constante d'ions cuivriques :

$$(\text{Cu}^{++})_t = 4,8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

et des quantités variables de *l*-leucine. La solution de base est constituée par du sulfate de potassium 0,1 N. La figure 21 montre la faisceau des courbes obtenues, qui sont analogues à celles de la série précédente.



pH = 5,0
Fig. 21.

En se basant sur les résultats obtenus lors de l'étude polarographique de solutions à teneur en cuivre variable, il est possible de calculer les concentrations en complexe formé, en cuivre libre, et d'en tirer la constante apparente de dissociation du complexe CuR^+ .

On ne peut toutefois utiliser ni les mélanges pour lesquels l'excès de *l*-leucine est faible par rapport aux ions cuivriques, car on s'éloigne des hypothèses faites pour établir les équations (52), (55) et (57), ni ceux pour lesquels cet excès est trop important, car le composé CuR_2 se forme, et le calcul de la constante k'_1 de stabilité du complexe CuR^+ n'est plus exact.

Pour 4 mélanges intermédiaires, nous avons trouvé :

$$pk'_1 = 7,78 \pm 0,06 \quad \text{pour une force ionique } \mu = 0,4 \text{ M}$$

b) *Etude à pH variable et concentrations totales en cuivre et l-leucine constantes.*

On a tracé les polarogrammes de solutions pour lesquelles les concentrations totales en cuivre et en *l*-leucine sont respectivement $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ et $60 \cdot 10^{-4}$. La solution de base est du sulfate de potassium 0,5 N.

La figure 22 montre le réseau de courbes obtenu à différents pH. Les courbes 1 à 5 sont semblables à celle du sulfate de cuivre seul ($\text{pH} < 4,45$). La courbe 6 ($\text{pH} = 5,00$) est analogue à celles étudiées précédemment. Au delà, pour les courbes 7 à 9 ($\text{pH} = 5,50, 5,60$ et $8,70$) on observe dans les solutions une précipitation qui s'accroît et qui se traduit par une diminution progressive de la hauteur totale des deux vagues.

Pour des pH voisins de 12, cette précipitation rétrograde et la solution redevient limpide (courbes 14 et 15) mais la décharge n'est plus réversible.

On peut calculer de la même façon que précédemment pour le seul mélange 6 à $\text{pH} = 5,00$, la constante k'_1 de stabilité du complexe CuR^+ . On obtient :

$$pk'_1 = 7,77 \quad \text{pour une force ionique } \mu = 1,50 \text{ M.}$$

Pour les mélanges 7 à 9, on remarque que la hauteur du deuxième palier est supérieure à celle du premier. Mais on peut supposer qu'une vague ciné-

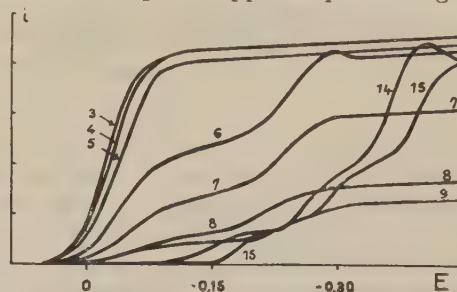


Fig. 22.

3 pH = 3,60	6 pH = 5,00	9 pH = 8,70
4 pH = 4,05	7 pH = 5,50	13 pH = 12,50
5 aH = 4,45	8 pH = 5,65	15 pH = 13,10

tique due au complexe CuR_2 vient se superposer à la décharge du composé CuR^+ . On aurait

$$i_1 = k_{\text{Cu}}(\text{Cu}^{++}) + k_{\text{CuR}^+}(\text{CuR}^+) \quad (62)$$

$$i_2 = k_{\text{CuR}^+}(\text{CuR}^+) + k_{\text{CuR}_2}(\text{CuR}_2) \quad (63)$$

Si les coefficients de diffusion sont du même ordre de grandeur, trois possibilités se présentent :

$$\text{si } (\text{CuR}_2) < (\text{Cu}^{++}) \quad \text{on a : } i_1 > i_2$$

$$(\text{CuR}_2) = (\text{Cu}^{++}) \quad \text{on a : } i_1 = i_2$$

$$(\text{CuR}_2) > (\text{Cu}^{++}) \quad \text{on a : } i_1 < i_2$$

L'hypothèse d'une deuxième vague cinétique permet donc de rendre compte des variations relatives de i_1 et i_2 ; le rapport i_1/i_2 tend vers zéro au fur et à mesure que le pH augmente puisque seul CuR_2 existe aux pH élevés. Mais on n'a pas pu étudier la variation du potentiel de demi-palier du complexe CuR_2 avec la concentration de *l*-leucine, car la décharge n'est plus réversible au delà de $\text{pH} = 12$.

4. Discussion des résultats.

L'étude polarographique a été faite dans des conditions aussi proches que possible de celles utilisées dans les méthodes précédentes, ce qui n'est pas toujours compatible avec les hypothèses faites pour établir les équations polarographiques dans le cas de la réduction des complexes à l'électrode à goutte.

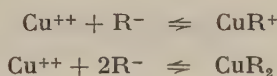
Nous avons pu cependant mettre en évidence avec netteté le complexe CuR^+ et calculer sa constante apparente de stabilité dont la valeur est en accord avec les précédentes déterminations.

Le complexe CuR_2 , par contre, se décharge par un processus non réversible dans les conditions expérimentales utilisées, et son étude est rendue difficile par les précipitations qui apparaissent, et viennent enlever toute précision aux courbes polarographiques

C. — Conclusions générales de l'étude des complexes cuivriques de la L-Leucine.

Les résultats obtenus lors de l'étude des complexes cuivriques de la L-leucine, tant par la méthode des mesures combinées que par celle des variations continues, la conductimétrie et la polarographie, sont absolument concordants.

Au point de vue qualitatif, ils conduisent tous à admettre la formation de deux composés CuR^+ et CuR_2 , un ion cuivrique pouvant être lié soit à un, soit à deux ions négatifs de l'acide aminé :



Les écarts très notables que nous avons constatés sont vraisemblablement dus au fait que les mesures ont été effectuées à des forces ioniques très différentes. Seules, les constantes vraies des complexes :

$$\begin{aligned}K_1 &= \frac{[\text{Cu}^{++}][\text{R}^-]}{[\text{CuR}^+]} = k_1' \cdot \frac{f_{\text{Cu}^{++}} \cdot f_{\text{R}^-}}{f_{\text{CuR}^+}} \\ K_2 &= \frac{[\text{Cu}^{++}][\text{R}^-]^2}{[\text{CuR}_2]} = k_2' \cdot \frac{f_{\text{Cu}^{++}} \cdot f_{\text{R}^-}^2}{f_{\text{CuR}_2}}\end{aligned}$$

sont invariables quelle que soit la force ionique des solutions.

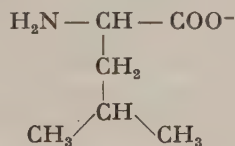
On peut toutefois obtenir des valeurs approchées de ces constantes en admettant d'une part que le coefficient d'activité de l'ion cuivrique est le même dans les solutions étudiées que dans des solutions de sel de cuivre d'anion identique et de même force ionique, d'autre part que les coefficients d'activité des deux ions de même charge et de structure analogue CuR^+ et R^- sont sensiblement égaux, enfin que le coefficient d'activité du complexe CuR_2 non chargé est peu différent de l'unité. Dans ces conditions :

$$\begin{aligned}pK_1 &= pk_1' - \log f_{\text{Cu}^{++}} \\ pK_2 &= pk_2' - \log f_{\text{Cu}^{++}} - 2 \log f_{\text{R}^-}.\end{aligned}$$

TABLEAU X

Méthode	μ	$\log f_{\text{Cu}^{++}}$	$\log f_{\text{R}^-}$	pk_1'	pK_1 vrai	pk_2'	pK_2 vrai
Mesures combinées.....	0,10 M	— 0,37	— 0,12	8,11	8,48	15,84	16,45
Polarographie	0,40 M	— 0,62	— 0,18	7,78	8,40	—	—
	1,50 M	— 0,85	— 0,25	7,77	8,62	—	—
Electrométrie	3 M	— 0,98	— 0,29	7,55	8,53	15,00	16,56
Spectrophotométrie	3 M	— 0,98	— 0,29	—	—	14,97	16,53
					$8,51 \pm 0,06$		$16,51 \pm 0,05$

R^- représentant l'ion négatif



Au point de vue quantitatif, il est intéressant de comparer entre elles les valeurs des constantes de stabilité des complexes mis en évidence. Nous avons déterminé, chaque fois que cela était possible, les constantes apparentes de stabilité :

$$k_1' = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)}{(\text{CuR}^+)} \quad \text{et} \quad k_2' = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)^2}{(\text{CuR}_2)}$$

Nous avons calculé $\log f_{\text{R}^-}$ en utilisant la méthode employée par J. CURCHOD⁽²⁰⁾ dans l'étude des complexes de l' α -alanine.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau X.

Ils sont suffisamment concordants,

$$pK_1 \text{ vrai} = 8,51 \pm 0,06$$

$$pK_2 \text{ vrai} = 16,51 \pm 0,05$$

pour justifier les hypothèses faites. On peut noter d'ailleurs que les valeurs de pk_1' données pour les forces ioniques $\mu = 0,1$ M et 3 M encadrent parfaitement la valeur de cette constante donnée par MALEY⁽¹⁶⁾ ($pk_1 = 7,89$).

CHAPITRE IV

IV. — Application de la méthode des mesures combinées à l'étude des complexes de la D-Isoleucine et de la DI-Norleucine.

A. — D-Isoleucine.

La méthode des mesures combinées ayant fait ses preuves lors de l'étude de la *L*-leucine, et ayant été corroborée par d'autres méthodes (*), la présente étude a été faite de la même manière et en prenant les mêmes précautions.

L'utilisation de l'acide sulfurique entraînant la complication des calculs du fait de l'intervention de l'équilibre entre les ions sulfate et bisulfate, nous avons employé l'acide nitrique et le nitrate cuivrique.

Nous avons effectué deux séries de mesures, l'une en solution diluée, l'autre en solution plus concentrée. La concentration du cuivre dans la solution mère a été vérifiée par dosage électrolytique.

PREMIÈRE SÉRIE.

Les titrages ont été effectués en utilisant des solutions mères diluées (*D*-isoleucine 0,02 M et nitrate cuivrique 0,02 M, toutes deux dans l'acide nitrique 0,1674 N). Des mélanges de ces solutions, dans lesquels le rapport q de la concentration totale de la *D*-isoleucine à celle du cuivre varie de 0,5 à 4, ont été titrés par une solution de potasse 0,3900 N.

1. Courbes de titrage des mélanges.

Les figures 23 et 26 montrent les courbes de titrage obtenues. Les courbes I représentent les volumes calculés n_I de potasse nécessaire pour amener les solutions à un pH déterminé en supposant qu'il ne se forme aucun complexe et que l'hydroxyde de

cuivre ne précipite pas. Les courbes II et III représentent respectivement les variations expérimentales du pH et de la différence $E_I - E_{II}$ des forces électromotrices en fonction du volume n_{II} de potasse ajoutée.

a) Mélange $q = 0,5$ (fig. 23). — La solution initiale, vers pH = 1,35, est presque incolore.

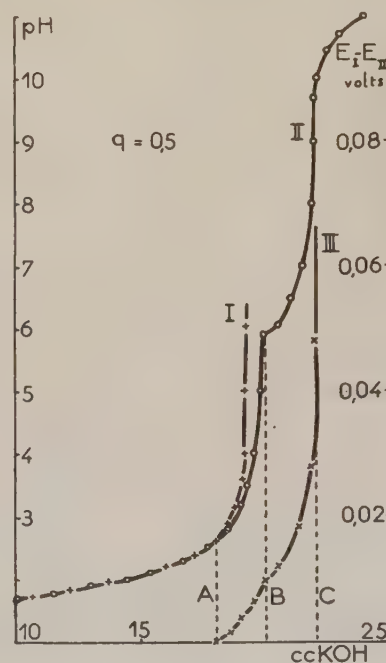


Fig. 23.

A partir de pH = 3,00, la coloration bleu-vert s'accroît jusqu'à pH = 5,80. Dans cette zone AB, les courbes I et II s'écartent, et les ordonnées de la

(*) Voir *Journal de Chimie Physique*.

courbe III augmentent. Il y a donc disparition des ions cuivriques par complexon.

Au delà, l'hydroxyde de cuivre précipite seul (zone BC).

b) *Mélange $q = 1$* (fig. 24). — La coloration bleu-vert de la solution initiale s'accroît de pH = 2,80 à pH = 3,60 puis la solution devient nettement plus bleue vers pH = 4,30. Cette transformation n'est pas mise en évidence sur les courbes II et III (zone AB). Le passage d'un complexe à l'autre est progressif comme on pouvait s'y attendre.

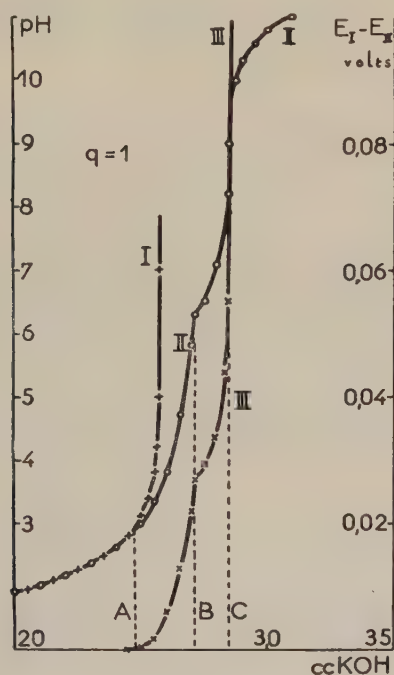


Fig. 24.

A pH = 6,50, la précipitation de l'hydroxyde cuivrique commence, marquée sur les courbes II et III par une cassure très nette.

c) *Mélange $q = 2$* (fig. 25). — La solution reste limpide tout au long du titrage. Presqu'incolore jusqu'à pH = 2,70, elle devient bleu-vert de plus en plus intense jusqu'à pH = 3,20, puis vire au bleu franc. Les courbes II et III ne présentent aucune cassure dans la zone AB.

Les résultats des mesures de force électromotrices faites au-delà de pH = 8,0 sont donnés avec réserves : l'amalgame de cuivre se ternit et s'oxyde et la concentration calculée des ions cuivriques de la solution ne doit être considérée que comme un ordre de grandeur.

d) *Mélange $q = 3$* . — Ce titrage a été effectué uniquement pour vérifier la présence d'ions R-non complexés en fin d'expérience.

e) *Mélange $q = 4$* (fig. 26). — Ce titrage se fait sans aucune précipitation. Incolore jusqu'à pH = 2,50

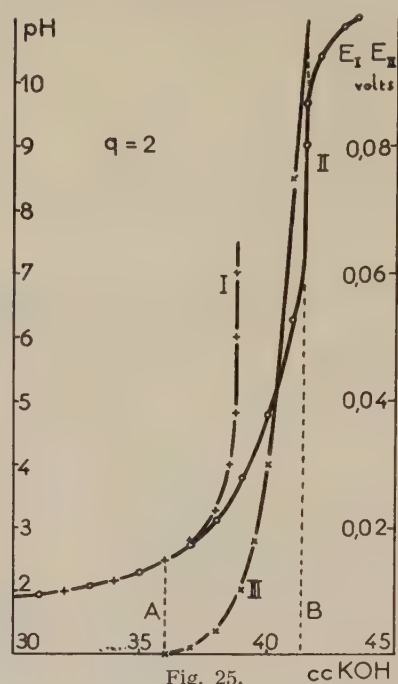


Fig. 25.

la solution devient bleu-vert, puis nettement bleue vers pH = 3,75. Les courbes II et III dans la zone AB sont analogues à celles du mélange $q = 2$.

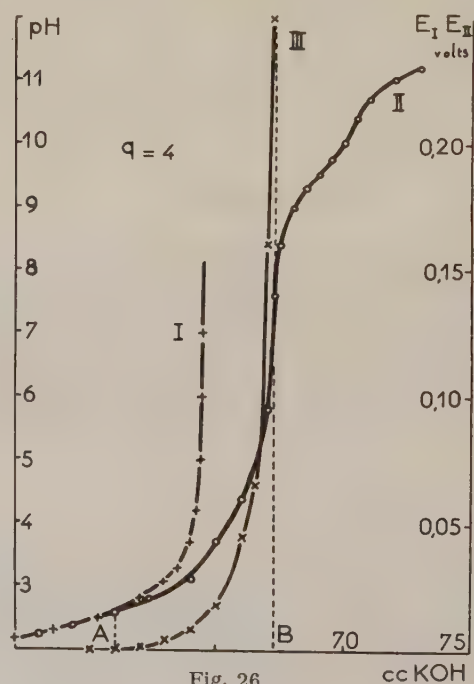


Fig. 26.

Au-delà, comme pour le mélange $q = 3$, la courbe II

indique que l'on titre la deuxième acidité de l'acide.

Étant donné d'autre part les précipitations d'hydroxyde de cuivre dans les mélanges $q = 0,5$ et $q = 1$, il est vraisemblable que les complexes CuR_m seront tels que :

$$1 \leq m < 3.$$

En définitive, on voit que la différence principale entre les titrages des mélanges cuivre-*l*-leucine et cuivre-*d*-isoleucine dans le même domaine de concentration, est l'absence du précipité bleu pâle d'hydroxyde CuROH . Nous verrons ultérieurement que l'apparition de ce dernier est en relation avec la solubilité de l'acide.

2. Formules et zones d'existence des complexes.

Nous avons calculé les quantités : $2A - B(1 + 2D)$, $A - B(1 + 2D)$, $A - B(D - E)$, $A - 2B(1 + 2D)$, $A - B(1 + 3D - E)$ et $A - 2B(D - E)$ dont les significations respectives ont été données par les relations (17) à (22) (*) et tracé les courbes correspondantes en fonction du pH.

a) Mélange $q = 0,5$ (fig. 27). — Nous avons vu précédemment qu'un tel faisceau permet de conclure

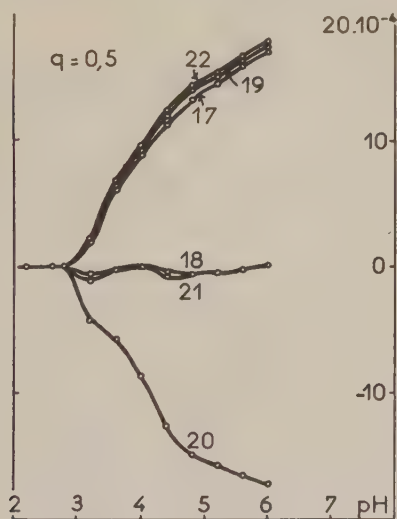


Fig. 27.

à la présence du complexe CuR^+ seul en quantité appréciable.

b) Mélange $q = 1$ (fig. 28). — Jusqu'à $\text{pH} = 4,50$, les courbes sont analogues aux précédentes. Au delà, la courbe 18 dont les ordonnées deviennent positives et la courbe 20 qui voit les siennes diminuer en valeur

absolue, montrent que le composé CuR_2 se forme aux dépens du complexe CuR^+ .

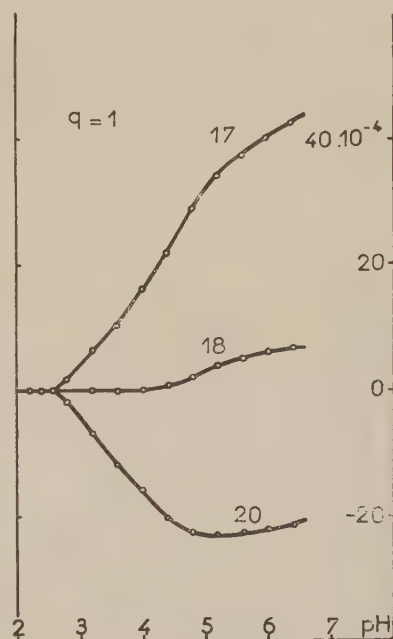


Fig. 28.

c) Mélanges $q = 2$ et $q = 4$ (fig. 29). — Ces deux

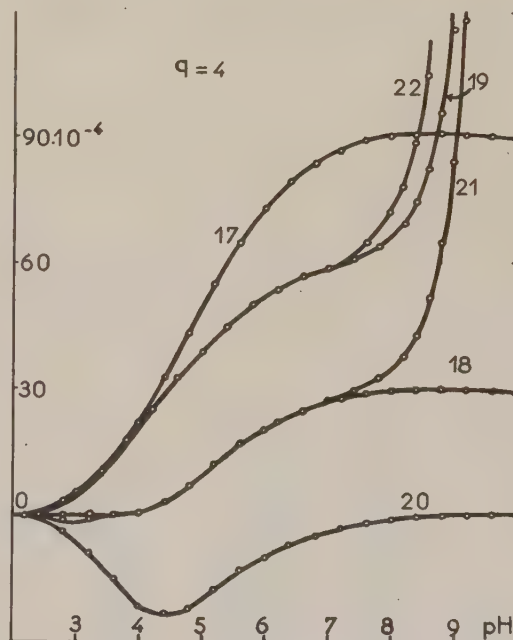


Fig. 29.

mélanges donnent deux faisceaux tout-à-fait semblables, analogues à ceux de la figure 1. (*).

(*) Voir *Journal de Chimie Physique* 1957, p. 830.

(*) Voir *Journal de Chimie Physique* 1957, p. 830.

La courbe 20 montre que la concentration du complexe CuR^+ , nulle à $\text{pH} = 3,20$, passe par un maximum pour $\text{pH} = 4,40$, puis devient négligeable au delà de $\text{pH} = 8,80$ tandis que celle du composé CuR_2 (courbe 18), qui n'apparaît en quantité notable dans la solution qu'au delà de $\text{pH} = 4,00$, augmente ensuite pour atteindre une limite vers $\text{pH} = 8,80$. Si cette concentration diminue légèrement au delà, c'est à cause de l'augmentation de volume de la solution.

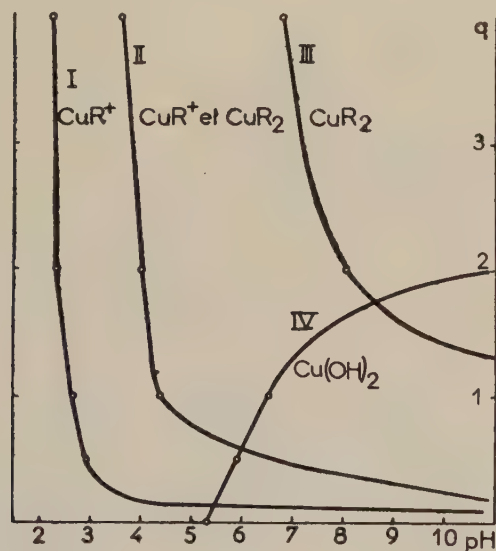


Fig. 30.

Les courbes 19, 21 et 22 ne tendent pas vers une limite, car au delà de $\text{pH} = 8$, le terme E croît rapidement et n'est plus négligeable.

d'existence des différents composés susceptibles de se former.

3. Détermination de (R^-) et constantes d'équilibre des complexes.

Puisque les mélanges ne contiennent au maximum que CuR^+ et CuR_2 , on peut calculer la concentration (R^-) des ions négatifs non complexés de l'acide d'après la relation :

$$(\text{R}^-)_{\text{II}} = \frac{b_{\text{II}} - z}{1 + 2D} \quad (23)$$

La concentration des ions cuivriques étant connue à partir des mesures électrométriques, le calcul des constantes de stabilité peut être conduit de trois manières différentes :

a) *Présence de CuR^+ seul et calcul de k'_1 à partir de B.* — La quantité B représente dans le mélange $q = 0,5$ la concentration de CuR^+ . Le calcul de la constante est immédiat (tableau X) et donne

$$pk'_1 = 8,39 \pm 0,05 \quad \text{sur 20 pH différents}$$

b) *Présence de CuR^+ et CuR_2 et calcul direct des constantes.* — La concentration des complexes CuR^+ et CuR_2 dans le mélange $q = 2$ est obtenue à partir des courbes de la figure 35 et le calcul des constantes est immédiat. Le tableau XI montre que CuR^+ se forme tout d'abord, puis CuR_2 apparaît. On obtient :

$$pk'_1 = 8,45 \pm 0,05 \quad \text{pour 22 valeurs différentes du pH}$$

$$pk'_2 = 15,53 \pm 0,03 \quad \text{pour 14 valeurs différentes du pH}$$

TABLEAU X

Mélange $q = 0,5$
 $\mu = 0,12 \text{ M}$

$a = 167.10^{-4} \text{ M}$
 $a' = 334,8$ —
 $t^\circ = 25^\circ \text{ C}$
 $K_1 = 4,79.10^{-8}$

$b = 20.10^{-4} \text{ M}$
 $d = 40$ —
 $y = 0,3900 \text{ N}$
 $K_2 = 1,76.10^{-10}$

pH	$n_{\text{II}} \text{ cm}^3$	$(\text{Cu}^{++})_{\text{II}}$	$B = (\text{CuR}^+)$	$(\text{R}^-)_{\text{II}}$	pk'_1
2,70	18,25	$35,66.10^{-4} \text{ M}$	$0,00.10^{-4} \text{ M}$	$1,11.10^{-10} \text{ M}$	—
2,80	18,45	35,11 —	0,50 —	1,46 —	7,99
2,90	18,65	34,11 —	1,15 —	1,88 —	8,25
3,00	18,77	33,63 —	1,90 —	2,39 —	8,37
3,20	19,00	32,22 —	3,25 —	3,69 —	8,44
3,40	19,16	30,75 —	4,70 —	5,17 —	8,47
3,60	19,30	29,22 —	6,10 —	7,55 —	8,44
3,80	19,41	27,78 —	7,55 —	10,62 —	8,41
4,00	19,50	26,10 —	9,35 —	14,59 —	8,40
4,20	19,58	24,14 —	11,25 —	19,32 —	8,38
4,40	19,65	22,68 —	12,82 —	25,05 —	8,35
4,60	19,70	21,47 —	13,95 —	32,20 —	8,30

A partir de ces résultats, nous avons représenté sur la figure 30, en fonction du pH et de q , les zones

c) *Coexistence de CuR^+ et CuR_2 et calcul graphique des constantes.* — Dans le mélange $q = 4$, on a calculé

TABLEAU XI

Mélange $q = 2$
 $\mu = 0,19 \text{ M}$

$a = 669,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 $a' = 334,8 \text{ —}$
 $t^{\circ} = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$
 $K_1 = 4,79 \cdot 10^{-3}$

$b = 80 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 $d = 40 \text{ —}$
 $y = 0,3900 \text{ M}$
 $K_2 = 1,76 \cdot 10^{-10}$

pH	$n_{II} \text{ cm}^3$	$(\text{Cu}^{++})_{II}$	$(\text{R}^{-})_{II}$	$(\text{CuR}^{+}) \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$(\text{CuR}_2) \cdot 10^{-4} \text{ M}$	pk'_1	pk'_2
2,80	37,18	$29,39 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$51,25 \cdot 10^{-11} \text{ M}$	2,67	0,00	8,25	—
3,00	37,72	27,07 —	85,96 —	4,89	—	8,32	—
3,20	38,17	24,18 —	$13,82 \cdot 10^{-10} \text{ M}$	7,71	—	8,36	—
3,40	38,50	21,01 —	21,57 —	10,82	—	8,38	—
3,60	38,77	17,83 —	33,06 —	13,95	—	8,38	—
3,80	39,03	14,33 —	49,50 —	17,41	—	8,39	—
4,00	39,29	10,17 —	71,82 —	21,33	0,20	8,46	—
4,20	39,52	7,38 —	$10,36 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	22,86	1,42	8,48	—
4,40	39,73	5,15 —	14,75 —	23,33	3,14	8,49	15,45
4,60	39,92	3,49 —	20,87 —	22,94	5,16	8,49	15,53
4,80	40,08	2,42 —	29,56 —	21,87	7,27	8,48	15,54
5,00	40,25	1,62 —	40,92 —	20,07	9,85	8,48	15,56
5,20	40,40	1,12 —	56,83 —	18,05	12,34	8,46	15,54
5,40	40,55	$7,33 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	76,19 —	15,78	14,98	8,46	15,55
5,60	40,67	4,76 —	$10,37 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	13,82	17,16	8,44	15,52
5,80	40,78	2,98 —	13,87 —	11,90	19,25	8,46	15,52
6,00	40,87	1,73 —	18,88 —	10,38	20,88	8,51	15,54
6,20	40,96	1,00 —	24,70 —	8,67	22,65	8,54	15,57
6,40	41,04	$6,02 \cdot 10^{-6} \text{ M}$	32,14 —	7,14	24,21	8,57	15,59
6,60	41,10	3,92 —	42,00 —	5,91	25,45	8,54	15,56
6,80	41,15	2,87 —	54,94 —	4,90	26,46	8,48	15,47
7,00	41,20	2,02 —	69,52 —	3,91	27,45	8,45	15,46

(tableau XII) les valeurs de la quantité C définie par :

$$C = \frac{d_{II} - (\text{Cu}^{++})_{II}}{(\text{Cu}^{++})_{II} (\text{R}^{-})_{II}} \quad (24)$$

Si on trace la courbe des variations de C en fonction de la concentration (R^{-}) , on obtient bien, comme le faisait prévoir la relation :

$$C = \frac{1}{k'_1} + \frac{1}{k'_2} (\text{R}^{-})_{II} \quad (25)$$

une droite dont l'ordonnée à l'origine et la pente permettent d'obtenir les constantes :

$$pk'_1 = 8,40 \quad pk'_2 = 16,17$$

En définitive, les valeurs moyennes des constantes obtenues sont respectivement :

Pour $q = 0,5$ $pk'_1 = 8,39 \pm 0,05$ sur 20 pH de 0,1 en 0,1
 Pour $q = 1$ $pk'_1 = 8,42 \pm 0,01$ sur 15 pH de 0,1 en 0,1
 Pour $q = 2$ $pk'_1 = 8,45 \pm 0,05$ sur 22 pH de 0,1 en 0,1
 $pk'_2 = 15,53 \pm 0,03$ sur 14 pH de 0,1 en 0,1
 Pour $q = 4$ $pk'_1 = 8,40$
 $pk'_2 = 16,17$

Remarques. — Les erreurs faites sur les pk deviennent assez grandes à partir d'un certain pH, car la concentration des ions Cu^{++} de la solution est très faible. Par exemple, dans le mélange $q = 4$, elle est inférieure, dès $\text{pH} = 5,40$, à 10^{-6} M . C'est

TABLEAU XII

Mélange $q = 4$
 $\mu = 0,28 \text{ M}$

$a = 1\,339,2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 $a' = 334,8 \text{ —}$
 $t^{\circ} = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$
 $K_1 = 4,79 \cdot 10^{-3}$

$b = 160 \cdot 10^{-4} \text{ M}$
 $d = 40 \text{ —}$
 $y = 0,3900 \text{ N}$
 $K_2 = 1,76 \cdot 10^{-10}$

pH	$n_{II} \text{ cm}^3$	$(\text{Cu}^{++})_{II}$	$B = (\text{CuR}^{+}) + (\text{CuR}_2)$	$(\text{R}^{-})_{II}$	C
2,60	61,02	$27,24 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$1,19 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$51,78 \cdot 10^{-11} \text{ M}$	$8,44 \cdot 10^7$
3,00	63,13	21,13 —	7,02 —	$15,37 \cdot 10^{-10} \text{ M}$	21,61 —
3,20	63,80	16,92 —	11,14 —	24,92 —	26,42 —
3,40	64,34	12,87 —	15,12 —	39,54 —	29,71 —
3,60	64,77	9,13 —	18,81 —	61,84 —	33,32 —
3,80	65,12	5,81 —	22,08 —	95,60 —	39,76 —
4,00	65,43	3,69 —	24,16 —	$14,63 \cdot 10^{-9} \text{ M}$	44,76 —
4,20	65,70	2,09 —	25,73 —	22,26 —	55,31 —
4,40	65,95	1,03 —	26,75 —	33,71 —	77,04 —
4,60	66,19	$5,50 \cdot 10^{-5} \text{ M}$	27,20 —	50,77 —	97,42 —

pourquoi nous n'avons effectué le calcul des constantes que dans une zone de pH comprise entre 3 et 7.

D'autre part, la quantité d'ions hydroxyles utilisée pour la neutralisation de l'acide nitrique des mélanges est grande par rapport à celle qui intervient dans les transformations ioniques de l'acide aminé. C'est pourquoi nous avons fait une seconde série de mesures en utilisant des solutions mères plus concentrées en *d*-isoleucine et en nitrate de cuivre; cette manière d'opérer devait nous permettre d'éviter cet inconvénient, et de savoir si le précipité de CuOH est totalement inexistant avec la *d*-isoleucine.

SECONDE SÉRIE.

On a effectué avec des solutions mères de *d*-isoleucine 0,1 M et de nitrate de cuivre 0,1 M, toutes

et CuR₂ dans les mélanges $q = 2$ et $q = 3$ tandis que le composé CuR⁺ prédomine pour $q = 0,5$ et $q = 1$.

Les limites inférieures de l'existence, tant du complexe CuR⁺ que de l'hydroxyde Cu(OH)₂, sont les mêmes que dans la série précédente (fig. 30, courbes I et IV respectivement). Par contre les courbes II et III sont beaucoup plus proches de la courbe I dans la deuxième série que dans la première, montrant ainsi une zone plus étroite pour la coexistence des deux complexes CuR⁺ et CuR₂.

3. Détermination de (R⁻) et constantes de stabilité des complexes.

Le tableau XIII précise la composition de chaque mélange et les conditions expérimentales des titrages.

Nous avons calculé comme précédemment les valeurs de z , (Cu⁺⁺)_{II}, B, (R⁻)_{II}, C et pk'_1 d'après les relations (11), (28), (16), (23) et (24).

TABEAU XIII

q	$K_1 = 4,79 \cdot 10^{-3}$ a	$K_2 = 1,76 \cdot 10^{-10}$ a'	$y = 0,1895 \text{ N}$ b	$t^\circ = 25^\circ \text{ C}$ d	μ
0,5	58.10 ⁻⁴ M	116.10 ⁻⁴ M	100.10 ⁻⁴ M	200.10 ⁻⁴ M	0,13 M
1	116 —	116 —	200 —	200 —	0,14 M
2	232 —	116 —	400 —	200 —	0,16 M
3	348 —	116 —	600 —	200 —	0,19 M

deux dans l'aide nitrique 0,0580 N, des mélanges tels que $q = 0,5$, 1, 2 et 3, et on les a titrés par une solution de potasse 0,1895 N.

1. Courbes de titrage des mélanges.

Les courbes de variations du pH en fonction du volume de potasse ajoutée pour les quatre mélanges étudiés sont analogues à celles de la première série.

Les solutions ont une coloration bleu-vert qui s'accroît au fur et à mesure des additions de potasse puis vire au bleu franc. On observe la formation d'hydroxyde cuivrique à pH = 5,50 dans le mélange $q = 0,5$ et à pH = 6,0 dans le mélange $q = 1$.

Toutefois, à la différence de la série précédente, un précipité granuleux bleu pâle se forme respectivement à pH = 6,00 et à pH = 5,10 dans les mélanges $q = 2$ et $q = 3$.

Puisque dans ce dernier mélange, on titre les ions (R⁻) libres, il est vraisemblable que les complexes CuR_{*m*} seront tels que :

$$1 \leq m \leq 3$$

2. Formules et zones d'existence des complexes.

Cette étude fait apparaître, comme dans la série précédente, la présence de deux complexes CuR⁺

Lorsque CuR⁺ et CuR₂ coexistent, nous avons tracé les courbes de variation de C en fonction de

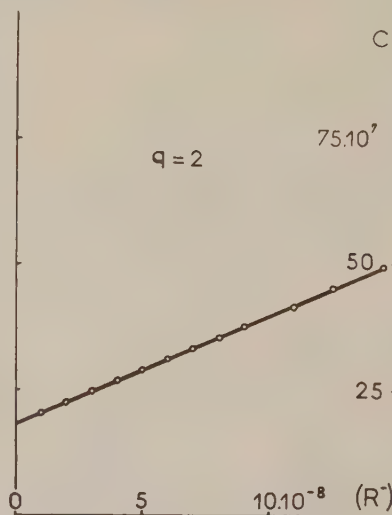


Fig. 31,

(R⁻). Ce sont des droites (fig. 31 et 32) dont l'ordonnée à l'origine et la pente donnent, d'après la relation (25) :

$$\begin{array}{lll} \text{Pour } q = 2 & pk'_1 = 8,27 & pk'_2 = 15,32 \\ \text{Pour } q = 3 & pk'_1 = 8,22 & pk'_2 = 15,45 \end{array}$$

Nous avons d'autre part calculé l'ordre de grandeur du produit de solubilité $S = (\text{CuR}^+) (\text{OH}^-)$ du précipité CuROH , de la même manière que pour la

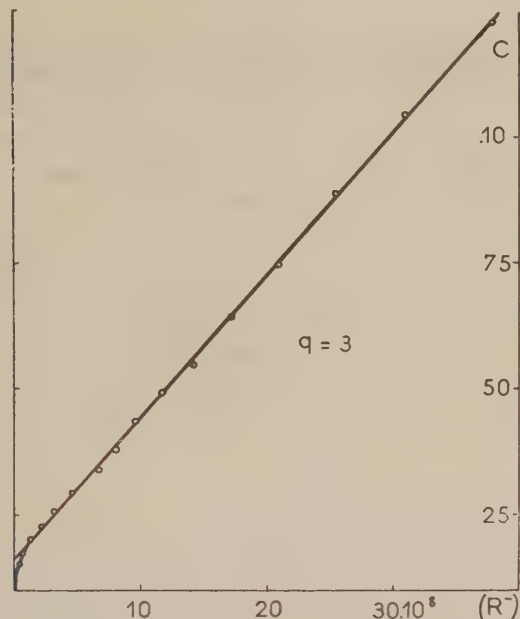


Fig. 32.

l-leucine (tableau XIV). On peut estimer, d'après les résultats obtenus, qu'il est de l'ordre de 1.10^{-12} .

TABLEAU XIV

q	pH	(OH^-)	(CuR^+)	$S < \text{à}$
2	5,90	$7,9.10^{-9}$	$31,0.10^{-4} \text{ M}$	$2,4.10^{-11}$
3	5,10	$1,3.10^{-9}$	$27,9.10^{-4} \text{ M}$	$3,6.10^{-12}$

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.

Il ressort de cette étude sur deux séries de solutions contenant du nitrate de cuivre et de la *d*-isoleucine, que deux complexes et deux seulement se forment en quantité appréciable : un ion Cu^{++} pouvant être lié soit à un, soit à deux ions R^- de l'acide.

Pour un mélange de composition donnée, le composé CuR^+ se forme à un pH plus acide que le composé CuR_2 . Ce dernier croît en quantité par rapport à CuR^+ lorsque, à pH constant, le rapport q de la concentration totale de *d*-isoleucine à celle du nitrate de cuivre augmente ; autrement dit, l'accroissement de q déplace la zone d'existence propre de chaque complexe vers les pH plus acides.

Les constantes de stabilité :

$$k_1' = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)}{(\text{CuR}^+)} \quad \text{et} \quad k_2' = \frac{(\text{Cu}^{++})(\text{R}^-)^2}{(\text{CuR}_2)}$$

relatives aux deux complexes mis en évidence sont des constantes apparentes, puisqu'elles ne font intervenir que les concentrations.

On peut toutefois obtenir des valeurs approchées des constantes vraies en admettant :

— que le coefficient d'activité de l'ion cuivrique dans les solutions étudiées est le même que dans les solutions de nitrate de cuivre de même force ionique ;

— que les coefficients d'activité des deux ions de même charge et de structure analogue CuR^+ et R^- sont sensiblement égaux ;

— que le coefficient d'activité du complexe CuR_2 non chargé est peu différent de l'unité. Dans ces conditions :

$$\text{pK}_1 = \text{pk}_1' - \log f_{\text{Cu}^{++}}$$

$$\text{pK}_2 = \text{pk}_2' - \log f_{\text{Cu}^{++}} - 2 \log f_{\text{R}^-}$$

Nous avons calculé $\log f_{\text{R}^-}$ — en utilisant la méthode employée par J. CURCHOD ⁽²⁰⁾ dans l'étude des complexes cuivriques de l' α -alanine.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XV.

Les faibles différences entre les forces ioniques des différentes solutions ne permettent pas des recouplements intéressants entre les valeurs obtenues pour les constantes vraies. Toutefois les résultats obtenus pour la *l*-leucine avec des forces ioniques très différentes nous conduisent à admettre que :

$$\text{pK}_1 = 8,69 \quad \text{et} \quad \text{pK}_2 = 16,04$$

sont des valeurs approchées des constantes vraies

TABLEAU XV

u	$\log f_{\text{Cu}^{++}}$	$\log f_{\text{R}^-}$	pk_1'	$\text{pK}_1 \text{ vrai}$	pk_2'	$\text{pK}_2 \text{ vrai}$
0,12 M	— 0,28	— 0,12	8,39	8,67		
0,14	— 0,31	— 0,13	8,49	8,80		
0,14	— 0,31	— 0,13	8,42	8,73		
0,16	— 0,32	— 0,14	8,27	8,59	15,32	15,92
0,19	— 0,33	— 0,14	8,45	8,78	15,53	16,14
0,19	— 0,33	— 0,14	8,22	8,55	15,45	16,06
0,28	— 0,34	— 0,16	8,40	8,74	16,17 (?)	—
				$8,69 \pm 0,08$		$16,04 \pm 0,07$

des deux complexes CuR^+ et CuR_2 mis en évidence.

Le complexe CuR^+ peut être précipité à l'état d'hydroxyde CuROH à des pH d'autant plus faibles que sa concentration est plus élevée, ce qui évident si l'on considère son produit de solubilité :

$$S = (\text{CuR}^+)(\text{OH}^-) = 1.10^{-12}.$$

Dans la première série de titrages, la concentration de CuR^+ n'est jamais assez élevée, à un pH déterminé, pour que le précipité se forme. Au contraire, pour les mélanges préparés à partir des solutions mères plus concentrées, le produit de solubilité est atteint, et CuROH précipite.

B. — DL. Norleucine.

L'étude des complexes cuivriques de la *dl*-norleucine par la méthode des mesures combinées a été faite en utilisant des mélanges de solutions mères d'acide aminé 0,02 M et de nitrate de cuivre 0,02 M dans l'acide nitrique 0,100 N; on a titré ces différents mélanges, dans lesquels le rapport q varie de 0,5 à 4, par une solution de potasse 0,500 N.

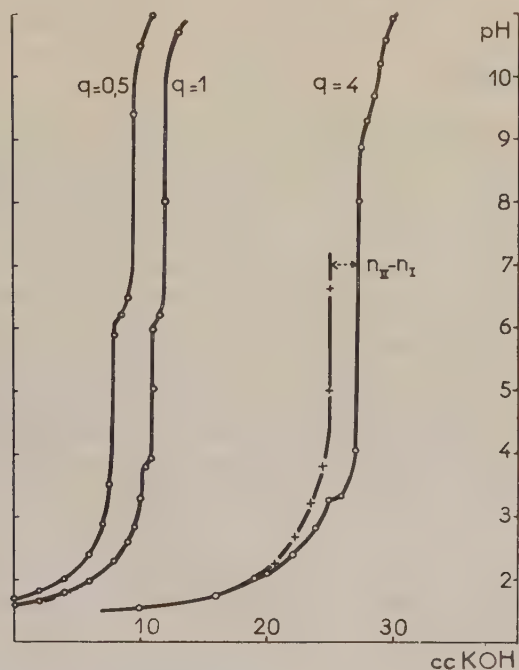


Fig. 33.

1. Courbes de titrage des mélanges.

Les courbes de titrage de la figure 33 présentent de grandes analogies avec celles obtenues pour la *l*-leucine.

a) *Mélange* $q = 0,5$. — La solution, sensiblement incolore au début, prend une coloration bleu-vert

de plus en plus intense de $\text{pH} = 2,60$ à $\text{pH} = 5,80$. A ce pH apparaît un précipité granuleux bleu pâle, puis, vers $\text{pH} = 6,20$, l'hydroxyde de cuivre précipite.

b) *Mélange* $q = 1$. — Les mêmes phénomènes se reproduisent, mais le précipité bleu pâle apparaît dès $\text{pH} = 3,80$ et l'hydroxyde de cuivre à $\text{pH} = 6$.

c) *Mélange* $q = 3$. — Le titrage a été effectué uniquement pour vérifier la présence d'ions R^- non complexés en fin d'expérience.

d) *Mélange* $q = 4$. — La solution reste limpide et bleu-vert jusqu'à $\text{pH} = 3,30$. Puis le précipité bleu pâle se forme, de plus en plus abondant. L'hydroxyde de cuivre n'apparaît pas. La dernière partie de la courbe indique qu'une partie des ions R^- est encore libre en fin de titrage.

Il est donc vraisemblable que les complexes CuR_m formés seront tels que :

$$1 \leq m < 3.$$

2. Formules et zones d'existence des complexes.

Comme précédemment, nous avons calculé, pour chaque mélange, les quantités $2A - B(1 + 2D)$, $A - B(1 + 2D)$, $A - B(D - E)$, $A - 2B(1 + 2D)$, $A - B(1 + 3D - E)$ et $A - 2B(D - E)$, et tracé les courbes correspondantes en fonction du pH.

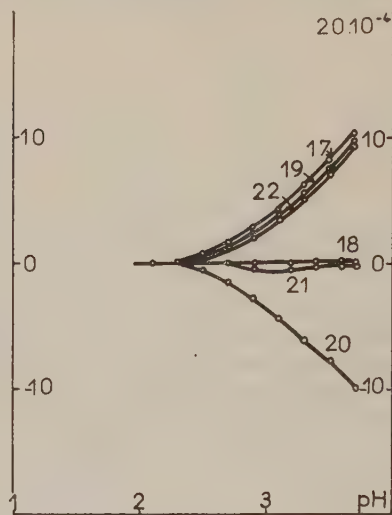


Fig. 34.

Les faisceaux de courbes sont tous analogues à celui représenté figure 34, relatif au mélange $q = 4$ et qui met en évidence le seul composé CuR^+ .

Il semble bien que ce complexe précipite à l'état d'hydroxyde CuROH avant que CuR_2 ne se forme, tout au moins pour les concentrations utilisées. Ceci est confirmé, dans le mélange $q = 4$, d'où l'hydroxyde

de cuivre est absent, par le fait suivant : si, en fin de titrage, on filtre la solution, on obtient un précipité bleu pâle abondant, tandis que le filtrat est complètement incolore.

La figure 35 représente les limites inférieures d'existence du complexe CuR^+ , du précipité CuROH et de l'hydroxyde de cuivre, en fonction du pH et du rapport q .

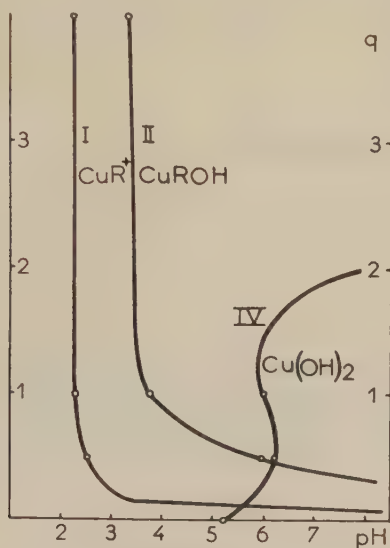


Fig. 35.

3. Détermination de (R^-) et constante d'équilibre du complexe.

Le calcul de la constante apparente de stabilité du complexe CuR^+ est immédiat, puisque celui-ci se forme seul; on connaît les concentrations respectives des ions Cu^{++} libres, du complexe, et des ions R^- , de l'acide par les relations (32, (16) et (23).

Le tableau XVI donne, pour le mélange $q = 0,5$, les éléments de ce calcul.

La détermination de pk_1 a été faite de la même manière pour les autres mélanges. Les valeurs obtenues sont respectivement :

Pour $q = 0,5$	$(\mu = 0,06 \text{ M})$	$pk_1' = 8,48 \pm 0,09$ sur 23 pH différents
Pour $q = 1$	$(\mu = 0,08 \text{ M})$	$pk_1' = 8,46 \pm 0,06$ sur 12 pH différents
Pour $q = 4$	$(\mu = 0,17 \text{ M})$	$pk_1' = 8,42 \pm 0,02$ sur 7 pH différents

4. Produit de solubilité du précipité CuROH .

Nous venons de voir que, dans les mélanges étudiés, le composé CuR_2 n'existe pas, alors qu'il n'en était pas ainsi pour les deux autres aminoacides. Ce fait va nous permettre de confirmer pleinement l'hypothèse que nous avons faite sur la nature du précipité bleu pâle qui apparaît au cours des titrages.

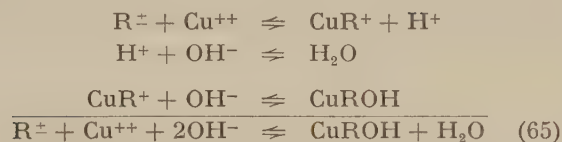
En effet, si nous calculons pour le mélange $q = 4$, où l'hydroxyde de cuivre ne précipite pas, le volume n_1 de potasse nécessaire pour amener la solution à $\text{pH} = 7,50$, par exemple, en supposant qu'il ne se forme ni complexe ni précipité de $\text{Cu}(\text{OH})_2$, on trouve que ce volume correspond à une quantité d'ions OH^- qui est le double de la quantité totale des ions cuivriques de la solution.

Autrement dit, pour passer de la solution imaginaire contenant, à $\text{pH} = 7,50$, tous les ions Cu^{++} non combinés et l'acide sous forme d'ions bipolaires (les ions R^+ et R^- étant pratiquement négligeables à ce pH) à la solution expérimentale de même pH ne renfermant que le précipité bleu pâle et le reste des ions $\text{R}^\pm$ non complexés, chaque ion Cu^{++} a demandé deux ions OH^- .

TABLEAU XVI

Mélange $q = 0,5$ $\mu = 0,06$			$a = 83,33 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$b = 16,66 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	
			$a' = 166,66$	$b = 33,33$	
			$t^\circ = 25^\circ \text{C}$	$y = 0,500 \text{ N}$	
			$K_1 = 4,64 \cdot 10^{-3}$	$K_2 = 1,47 \cdot 10^{-10}$	
pH	$n_{\text{II}} \text{ cm}^3$	$(\text{Cu}^{++})_{\text{II}}$	$\text{B} = (\text{CuR}^+)$	$(\text{R}^-)_{\text{II}}$	pk_1'
2,40	6,05	$32,04 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$0,00 \cdot 10^{-4} \text{ M}$	$3,08 \cdot 10^{-11} \text{ M}$	—
2,60	6,57	31,42 —	0,51 —	5,78 —	8,45
2,80	6,91	30,58 —	1,29 —	10,41 —	8,61
3,00	7,15	29,52 —	2,30 —	17,52 —	8,65
3,20	7,30	28,72 —	3,07 —	29,19 —	8,56
3,40	7,44	27,73 —	4,03 —	43,50 —	8,52
3,60	7,55	26,57 —	5,17 —	62,26 —	8,50
3,80	7,63	25,15 —	6,57 —	86,38 —	8,47
4,00	7,71	24,00 —	7,70 —	$11,54 \cdot 10^{-10} \text{ M}$	8,44
4,20	7,77	22,73 —	8,96 —	15,15 —	8,42
4,40	7,82	21,86 —	9,82 —	19,21 —	8,37
4,60	7,86	20,86 —	10,81 —	24,28 —	8,33
4,80	7,90	19,75 —	11,92 —	27,73 —	8,34
5,00	7,92	18,99 —	12,67 —	35,42 —	8,28
5,20	7,94	18,41 —	13,25 —	42,74 —	8,23
5,40	7,96	17,16 —	14,49 —	45,35 —	8,27
5,60	7,98	15,87 —	15,78 —	35,69 —	8,47

Cette constatation s'explique très bien si l'on imagine les réactions suivantes :



L'ordre de grandeur du produit de solubilité S

$$S = (CuR^{+})(OH^{-}) \quad (66)$$

a été calculé comme pour les autres aminoacides en utilisant les valeurs de (CuR^{+}) et (OH^{-}) les plus voisines possibles de l'apparition du précipité.

Le tableau XVII donne les résultats obtenus pour les trois mélanges.

TABLEAU XVII

q	pH	(OH^{-})	(CuR^{+})	$S < a :$
0,5	5,90	$7,9 \cdot 10^{-9}$	$16,7 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-11}$
1	3,80	$6,3 \cdot 10^{-11}$	$11,9 \cdot 10^{-4}$	$7,5 \cdot 10^{-14}$
4	3,30	$2 \cdot 10^{-11}$	$11,88 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-14}$

On peut donc estimer que le produit de solubilité S est de l'ordre de $1 \cdot 10^{-14}$.

5. Interprétation des résultats.

Cette étude montre que dans la zone des concentrations utilisées, les solutions contenant du nitrate de cuivre et de la *dl*-norleucine donnent naissance à un seul complexe, CuR^{+} , qui se forme en quantité appréciable.

Le composé peut être précipité à l'état d'hydroxyde $CuROH$ dont le produit de solubilité est de l'ordre de $1 \cdot 10^{-14}$.

TABLEAU XVIII

μ	$\log f_{Cu^{++}}$	pk'_1	pK_1 vrai
0,06	— 0,22	8,48	8,70
0,08	— 0,25	8,46	8,71
0,17	— 0,32	8,42	8,74
			$8,71 \pm 0,05$

On peut calculer une valeur approchée de la constante vraie de stabilité du complexe CuR^{+} en conduisant le calcul de la même manière que pour la *l*-leucine et l'isoleucine. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau XVIII et on peut admettre que :

$$pK_1 = 8,71$$

CHAPITRE V

Conclusions générales sur l'étude des complexes cuivriques des leucines

Les conclusions de cette étude, par différentes méthodes physico-chimiques, des complexes cuivriques des acides aminés isomères de la famille des leucines, peuvent être placées sur deux plans différents :

A. — Méthodes employées.

Si l'on se place du point de vue des méthodes employées pour cette étude, il ressort que :

1) La méthode des variations continues est sans conteste la plus précise. Mais dans le cas de la coexistence de plusieurs complexes, l'interprétation des résultats doit être conduite avec prudence.

2) La conductimétrie n'a pu être utilisée que sur un plan qualitatif.

3) La polarographie n'a donné que des résultats fragmentaires.

4) L'utilisation d'un seul type de mesure ne semble pas permettre de résoudre complètement le problème. De fait, la combinaison de la mesure électrométrique de la concentration des ions cuivriques avec celle du pH nous a conduit à mettre au point une méthode de calcul permettant :

a) d'éliminer, parmi tous les complexes possibles, les termes relatifs aux complexes qui n'existent pas en quantité notable;

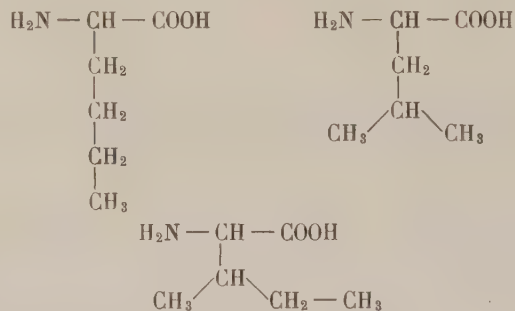
b) de déterminer la zone de pH dans laquelle l'un seulement des complexes existant prédomine;

c) d'atteindre la concentration de l'acide aminé libre;

d) de calculer la constante de stabilité de chaque complexe; nous avons pu ainsi obtenir, par cette méthode dite des mesures combinées, un ensemble de résultats assez complets et qui concordent parfaitement avec ceux obtenus par les techniques mentionnées ci-dessus.

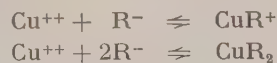
B. — Résultats obtenus pour les aminoacides étudiés.

1. *Formule des complexes.* — Nous avons représenté par R l'acide aminé utilisé c'est-à-dire respectivement :



pour la norleucine, la leucine et l'isoleucine.

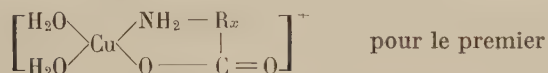
Les deux types de complexes mis en évidence se forment avec l'ion négatif de l'acide aminé suivant les équilibres :



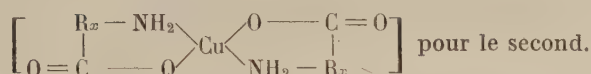
Nous avons pu calculer leurs proportions relatives; dans le cas de la *l*-leucine, nous avons en outre donné

le spectre d'absorption de chaque complexe et le potentiel de demi-palier polarographique de CuR^+ .

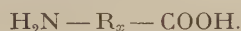
L'ensemble des faits observés et des études analogues faites sur d'autres aminoacides conduisent à penser que ces composés sont des chélates du type bidentate ayant une configuration planaire. Rien ne s'oppose à ce qu'ils soient représentés par une formule du même type que celle que LEY⁽¹⁸⁾ par exemple donnait au glycinate de cuivre, à savoir :



et



chaque aminoacide étant représenté par



Il y a tout lieu de penser en effet que l'acide est lié au cuivre par les deux radicaux aminé et carboxyle. Sinon, on ne voit pas pourquoi on ne mettrait pas en évidence des composés CuR_3 et CuR_4 .

Nous avons pu montrer d'autre part que les complexes du type CuR^+ sont susceptibles de précipiter à l'état d'hydroxydes d'après l'équation :



2. *Constantes de stabilité des complexes.* — On a rassemblé dans le tableau XIX les valeurs des constantes thermodynamiques de stabilité des complexes :

$$K_1 = \frac{[\text{Cu}^{++}][\text{R}^-]}{[\text{CuR}^+]} \quad K_2 = \frac{[\text{Cu}^{++}][\text{R}^-]^2}{[\text{CuR}_2]}$$

obtenues par les différentes méthodes que nous avons utilisées ainsi que celles, très rares, données par d'autres auteurs. Le produit de solubilité

$$S = (\text{CuR}^+)(\text{OH}^-)$$

est également indiqué pour les trois aminoacides.

De l'examen de ce tableau, on peut conclure que :

a) les valeurs obtenues par des méthodes différentes pour les constantes vraies des complexes de la *l*-leucine sont extrêmement concordantes :

$$pK_1 = 8,51 \pm 0,06$$

$$pK_2 = 16,51 \pm 0,05$$

b) Les constantes vraies de dissociation du premier complexe CuR^+ sont, pour les trois leucines, très voisines :

$$pK_1 = 8,51 \quad \text{pour la } l\text{-leucine}$$

$$8,69 \quad \text{pour l'isoleucine}$$

$$8,71 \quad \text{pour la norleucine.}$$

c) Les différences entre les valeurs des constantes vraies de dissociation du complexe CuR_2 sont plus notables.

Le complexe CuR_2 a pu être cristallisé, notamment pour la *d*-isoleucine. Il se présente sous la forme de lamelles en losange d'un bleu très intense.

3. *Produit de solubilité de l'hydroxyde CuROH .* — L'ion complexe CuR^+ peut être précipité à l'état d'hydroxyde CuROH de coloration bleu pâle. Le produit de solubilité stoechiométrique *S* a été déterminé approximativement. On constate que *S* varie dans le même sens que la solubilité de l'acide.

Aminoacide	S	s (g/100 cm ³)
—	—	—
<i>dl</i> -norleucine.....	$1 \cdot 10^{-14}$	1,15
<i>l</i> -leucine	$1 \cdot 10^{-13}$	2,30
<i>d</i> -isoleucine	$1 \cdot 10^{-12}$	4,12

Il en résulte que pour une leucine peu soluble, telle que la *dl*-norleucine, l'hydroxyde CuROH peut précipiter à un pH tel que le complexe CuR_2 n'apparaît pas. C'est ce qui explique notre insuccès à mettre en évidence ce complexe, même dans les solutions relativement diluées que nous avons utilisées.

TABLEAU XIX

Aminoacide	Méthode	pK_1	pK_2	S
—	—	—	—	—
<i>l</i> -leucine	Variations continues	8,53	16,54	—
	Polarographie	8,51	—	—
	Mesures combinées	8,48	16,45	$1 \cdot 10^{-13}$
	Fonction de formation MALEY ⁽¹⁵⁾	7,89	—	—
<i>d</i> -isoleucine	Mesures combinées	8,69	16,04	$1 \cdot 10^{-12}$
Norleucine	Mesures combinées	8,71	—	$1 \cdot 10^{-14}$
	Fonction de formation ALBERT ⁽¹⁶⁾	—	15,50	$1 \cdot 10^{-14}$
	Polarographie Li ⁽¹⁷⁾	—	15,20	—

Au contraire, pour la *d*-isoleucine, beaucoup plus soluble, le produit de solubilité de CuROH n'est atteint, même pour des pH nettement alcalins, que pour des concentrations assez élevées de l'ion complexe CuR⁺; ce qui correspond à des concentrations assez fortes en sel cuivrique et en amino-acide. C'est la raison pour laquelle nous avons pu, pour la *d*-isoleucine, étudier une gamme assez étendue de concentrations et de pH, et mettre en évidence, dans une large zone, les deux complexes CuR⁺ et CuR₂.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) F. H. GETMAN. — *J. Phys. Chem.*, 1930, **34**, 1454-1465.
- (2) M. QUINTIN. — *J. Chim. Phys.*, 1933, 319-336.
- (3) A. LEBETTRE. — *Diplôme d'études supérieures Fac. Sci. Paris*, 1934; Presses Univers. de France.
- (4) F. MULLER et M. REUTHER. — *Z. Elektrochem.*, 1941, **47**, 640.
- (5) P. K. SMITH, A. C. TAYLOR et E. R. B. SMITH. — *J. Biol. Chem.*, 1937, **122**, 109-123.
- (6) Paul JOB. — *Ann. Chim.*, 1928, [10], **9**, 113.
- (7) Paul JOB. — *Ann. Chim.*, 1936, [11], **6**, 97.
- (8) H. BORSOOK et K. V. THIMANN. — *J. Biol. Chem.*, 1932, **98**, 671-705.
- (9) M. QUINTIN. — *J. Chim. Phys.*, 1950, **47**, 898-913.
- (10) I. KLOTZ, L. FALLER et J.-M. URQUART. — *J. Phys. and colloid Chem.*, 1950, **54**, 18-32.
- (11) H. A. C. VAN DER GON. — *Arch. Nederland Sci.*, 1923, **7**, 140-155.
- (12) D. ILKOVIC. — *Coll. Czechosl. Chem. Commun*, 1936, **8**, 13.
- (13) I. M. KOLTHOFF et J. J. LINGANE. — *Polarography*, p. 161-183; Intersciences Pub. Inc. New-York, 1946.
- (14) J. BADOZ-LAMBLING. — *Thèse de Docteur ès Sciences*, Paris, 1952.
- (15) B. WIESNER. — *Z. Elek. Chem.*, 1943, **49**, 164.
- (16) L. E. MALEY et D. P. MELLOR. — *Austr. J. of Sci. Research* Serie A, 1949, **1** 2, n° 4, p. 578-94.
- (17) A. ALBERT. — *Biochem. J.*, 1950, **47**, 531.
- (18) C. NORMAN LI et E. DOODY. — *J. am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 221-5.
- (19) LEY. — *Z. Elektrochem.*, 1904, **10**, 954.
- (20) J. CURCHOD. — *J. de Chimie Phys.*, 1956, p. 194.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — MÉTHODE DES MESURES COMBINÉES.....	5
INTRODUCTION	5
A. Principe	6
B. Méthode de mesure et appareillage	9
C. Application aux complexes de la L-Leucine.....	10
D. Discussion des résultats	13
CHAPITRE II. — L-LEUCINE. MÉTHODE DES VARIATIONS CONTINUES.....	15
Introduction	15
A. Principe de la méthode	15
B. Appareillage et produits	16
C. Résultats obtenus par les mesures électrométriques	17
D. Résultats obtenus par les mesures spectrophotométriques.....	20
E. Conclusions.....	24
CHAPITRE III. — L-LEUCINE. CONDUCTIMÉTRIE.....	25
A. Conductimétrie.....	25
B. Polarographie.....	28
C. Conclusions	32
CHAPITRE IV. — APPLICATION DE LA MÉTHODE DES MESURES COMBINÉES A L'ÉTUDE DES COMPLEXES DE LA D-ISO-LEUCINE ET DE LA DL-NORLEUCINE.....	33
A. D-Isoleucine	33
B. DL-Norleucine.....	40
CHAPITRE V. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES SUR L'ÉTUDE DES COMPLEXES CUIVRIQUES DES LEUCINES.....	43
A. Méthodes employées	43
B. Résultats obtenus pour les amino-acides étudiés	43
BIBLIOGRAPHIE	45

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Relation entre la viscosité et la structure des hauts polymères.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 27 Avril 1955,

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
JEAN SARRAILH.
